

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

PALOMA JAMILY CRISTINA MAGALHÃES

**Uso do etanol para extração do óleo residual da torta de amendoim e
como agente precipitante na obtenção de concentrados proteicos**

Pirassununga

2023

PALOMA JAMILY CRISTINA MAGALHÃES

**Uso do etanol para extração do óleo residual da torta de amendoim e
como agente precipitante na obtenção de concentrados proteicos**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências do programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Christianne Elisabete da Costa Rodrigues (FZEA/USP)

Coorientador: Prof. Dr. Daniel Gonçalves (CCTA/UENF)

Pirassununga

2023

Ficha catalográfica elaborado pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Magalhães, Paloma Jamily Cristina

M188u Uso do etanol para extração do óleo residual da
torta de amendoim e como agente precipitante na
obtenção de concentrados proteicos / Paloma Jamily
Cristina Magalhães; orientadora Christianne Elisa-
bete da Costa Rodrigues; coorientador Daniel Gon-
çalves. -- Pirassununga, 2023.

116 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Proteínas de amendoim. 2. Óleo de amendoim. 3.
Etanol. 4. Precipitação alcoólica. 5. Propriedades
funcionais. I. Rodrigues, Christianne Elisabete da
Costa, orient. II. Gonçalves, Daniel, coorient. III.
Título.

*“Nunca desista. Persista.
Imite a corrente da água que escoia sem cessar, apesar dos empecilhos da
marcha.*

Esforce-se.

*Recorde que a vitória, para ser verdadeira, precisa ter sido difícil.
Lutar, continuar sempre, é saber desfrutar o verdadeiro valor da vida.”*

André Roberto Magalhães

*Dedico esse trabalho ao meu amado avô Benedito Jamil Magalhães
(in memoriam), que sempre esteve ao meu lado.*

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela vida, por todas as oportunidades e por concluir esta etapa.

Ao meu amado avô Benedito Jamil Magalhães (*in memoriam*), a quem dedico este trabalho, agradeço por todo apoio, amor e carinho que me deu em vida. Que este momento seja de felicidade e orgulho, onde quer que você esteja. Saudades eterna!

Agradeço a minha orientadora Christianne Elisabete da Costa Rodrigues e a Prof.^a Dra. Cintia Bernardo Gonçalves (*in memoriam*) por me aceitarem como aluna especial na disciplina de Tópicos Especiais sobre Óleos e Gorduras, em 2019. Disciplina esta que me encantou e me fez querer aprender mais sobre a Engenharia de Alimentos. À Prof.^a Dra. Christianne, sou grata por todo carinho, dedicação e paciência ao longo desta jornada.

Agradeço ao meu coorientador Prof. Dr. Daniel Gonçalves por toda dedicação e paciência.

À Keila, minha eterna gratidão, não apenas pelos ensinamentos técnicos, mas por todo carinho e ensinamentos de vida que levarei comigo para sempre. Muito obrigado por sempre ouvir meus desabafos, secar minhas lágrimas e me animar de uma forma leve e positiva que só ela sabe.

Agradeço as amigas Maria Carolina Capellini, Paola Visioli, Ingrid Denardi Soares, Rafaela Torrezan Privatti e José Pedro Prado pela amizade, ensinamentos, por toda ajuda e apoio que me deram ao longo do mestrado.

Agradeço aos alunos de iniciação científica Marina Costa Benfati, André Xavier Gomes de Araújo e Isabela Cecília Rodrigues Souza que, de alguma forma, me auxiliaram no projeto. À também aluna de iniciação científica Luiza Cardoso Stumm, por todo auxílio e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos técnicos de laboratório Carla Alves Monaco Lourenço (Centro Multiusuário de Funcionalidade de Macromoléculas), Cibele Maria Prado Zinni (Morfofisiologia Molecular e Desenvolvimento), Marcelo Thomazini (Encapsulação e Alimentos Funcionais) e Silvana Marina Piccoli Pugine (Química Biológica), Mariana Pavesi (Laboratório de Construções Rurais), Ana Mônica Quinta Barbosa Bittante (Laboratório de Tecnologia dos Alimentos) e Roice Eliana Rosim (Laboratório de Microbiologia e Micotoxicologia de Alimentos) e aos professores responsáveis pelos respectivos laboratórios, Profa. Dra. Rosemary Aparecida de Carvalho, Prof. Dr. Flávio Vieira Meirelles, Profa. Dra. Carmen Sílvia Fávoro Trindade, Profa. Dra. Mariza Pires de Melo, Prof. Dr. Holmer Savastano

Júnior, Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral e Prof. Dr. Carlos Augusto Fernandes de Oliveira, agradeço por toda ajuda prestada na realização dos experimentos.

Agradeço à toda comunidade da FZEA/USP, professores, funcionários e colegas discentes da pós-graduação em Engenharia de Alimentos que, de alguma forma, auxiliaram na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Estéfano Vizconde Veraszto, agradeço por toda paciência, conversas e orientações. Obrigado por me mostrar que sempre há um caminho a se seguir e me fazer enxergar as oportunidades a minha frente.

Agradeço a participação dos membros componentes da banca examinadora pelas valiosas contribuições.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradeço as agências de fomento à pesquisa FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - 2014/21252-0 e 2018/13207-6) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - 306020/2022-0) pelo apoio financeiro durante o desenvolvimento deste trabalho.

Magalhães, P. J. C. **Uso do etanol para extração do óleo residual da torta de amendoim e como agente precipitante na obtenção de concentrados proteicos. 2023. 116 f.** Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

RESUMO

As recentes preocupações ambientais relacionadas ao crescimento populacional e a produção de alimentos de origem animal vêm provocando mudanças no hábito alimentar da população. Neste sentido, a indústria de alimentos tem buscado atender a essa demanda com a incorporação de produtos de origem vegetal, além da possibilidade de utilização de subprodutos ou coprodutos de processamento de grãos oleaginosos para obtenção de concentrados proteicos, tal como a torta de prensagem do amendoim. Obtida através da prensagem mecânica dos grãos, a torta de prensagem pode ser submetida a extração com solventes visando a recuperação do óleo remanescente, resultando em sólido desengordurado, matéria-prima para a recuperação das proteínas. O hexano (Hx) é o solvente mais utilizado na indústria para a extração de óleo de matrizes vegetais. Apresenta como principal vantagem a produção de sólido desengordurado com baixo teor de lipídeos, porém é obtido de fontes não renováveis e altamente tóxico, contribuindo para a poluição ambiental. Neste sentido, solventes alternativos para a extração de óleos têm sido sugeridos, com destaque para o etanol (Et), que é reconhecido como seguro e proveniente de fontes renováveis. Neste trabalho, Et foi avaliado nas etapas de extração do óleo residual contido em torta de prensagem, sendo comparado ao Hx, e na etapa de precipitação de proteínas, sendo comparado ao método tradicional de precipitação isoelétrica. Na etapa de extração dos lipídeos, a performance dos solventes Et e Hx foi comparada, sendo avaliadas variáveis tais como temperatura, razão sólido/solvente e número de estágios de contato na extração sequencial em correntes cruzadas e o efeito destas variáveis nos óleos e sólidos desengordurados. Na extração com Et, para se atingir rendimento estatisticamente igual ao proporcionado pelo Hx, $86 \pm 2\%$, foi necessária a utilização de temperatura mais elevada, maior quantidade de solvente e de estágios de contato. Os óleos obtidos com Et e Hx apresentaram composição em termos de ácidos graxos e triacilgliceróis e propriedades físicas semelhantes ao óleo extraído por prensagem a frio. O óleo extraído com Et apresentou maior acidez livre e tonalidade verde/amarelo mais intensa que os óleos obtidos por prensagem a frio e com hexano, indicando que as etapas de desacidificação e branqueamento no refino devem ser oneradas. Os sólidos desengordurados obtidos da extração com Et e Hx apresentaram alto teor proteico ($> 45\%$ em massa) e alta solubilidade de

nitrogênio (> 80%), sendo utilizados para obtenção de concentrados proteicos. Nesta etapa foram avaliadas variáveis como temperatura e pH. A precipitação alcoólica permitiu obtenção de concentrados proteicos com teores de proteínas semelhantes a precipitação isoelétrica, variando entre 73 e 79%. De forma geral, os concentrados obtidos apresentaram coloração avermelhada devido ao pH alcalino utilizado na etapa de extração. O concentrado obtido da extração de lipídeos e precipitação com Et apresentou funcionalidades semelhantes aos concentrados obtidos pelo método de precipitação isoelétrica (índice de solubilidade de $104 \pm 5\%$, capacidade de absorção de água e óleo de 8 ± 1 e $1,2 \pm 0,1$ g/g concentrado, respectivamente), mostrando que o solvente renovável pode ser utilizado para extração de lipídeos e precipitação proteica.

Palavras-chave: Proteínas de amendoim. Óleo de amendoim. Etanol. Precipitação alcoólica. Propriedades funcionais.

Magalhães, P. J. C. **Use of ethanol for extracting residual oil from peanut cake and as a precipitating agent in obtaining protein concentrates.** 2023. 116 f. M. Sc. Dissertation - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

ABSTRACT

Recent environmental concerns related to population growth and the production of food of animal origin have been causing changes in the population's eating habits. In this sense, the food industry has sought to meet this demand by incorporating products of plant origin, besides the possibility of using byproducts and coproducts of oleaginous grains processing to obtain protein concentrates, such as peanut pressed cake. Obtained through the mechanical pressing of the grains, the press cake can be subjected to extraction with solvents in order to recover the remaining oil, resulting in a degreased solid, raw material for the recovery of proteins. Hexane (Hx) is the most used solvent in the industry for extracting oil from vegetable matrices. Its main advantage is the production of a defatted solid with low lipid content. However, it is obtained from non-renewable sources and is highly toxic, contributing to environmental pollution. In this sense, alternative solvents for extracting oils have been suggested, especially ethanol (Et), which is considered safe and comes from renewable sources. In this work, Et was evaluated in the residual oil extraction steps contained in the press cake, being compared to Hx, and in the protein precipitation step, being compared to the traditional method of isoelectric precipitation. In the lipid extraction step, the performance of the Et and Hx solvents was compared, evaluating variables such as temperature, solid/solvent ratio, and number of contact stages in the sequential extraction in crossed currents and the effect of these variables on the oils and defatted solids. In the extraction with Et, to reach the statistically equal yield as that provided by Hx, $86 \pm 2\%$, it was necessary to use a higher temperature, a greater amount of solvent, and contact stages. The oils obtained with Et and Hx presented a composition of fatty acids, triacylglycerols, and physical properties similar to the oil extracted by cold pressing. The oil extracted with Et had a higher free acidity and a more intense green/yellow hue than the oils obtained by cold pressing and hexane, indicating that the deacidification and bleaching steps in refining should be burdened. The defatted solids obtained from the extraction with Et and Hx had a high protein content ($> 45\%$ by mass) and high nitrogen solubility ($> 80\%$), being used to obtain protein concentrates. In this step, varia-

bles such as temperature and pH were evaluated. Alcoholic precipitation allowed obtaining protein concentrates with protein contents similar to isoelectric precipitation, varying between 73 and 79%. The concentrates obtained were reddish due to the alkaline pH used in the extraction step. The concentrate obtained from the lipid extraction and precipitation with Et presented functionalities similar to the concentrates obtained by the isoelectric precipitation method (solubility index of $104 \pm 5\%$, water and oil absorption capacity of 8 ± 1 e 1.2 ± 0.1 g/g concentrate, respectively), showing that the renewable solvent can be used for lipid extraction and protein precipitation.

Keywords: Peanut proteins. Peanut oil. Ethanol. Alcoholic precipitation. Functional properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fluxograma das atividades experimentais desenvolvidas para execução desta dissertação.	22
Figura 2. Produção nacional de etanol (janeiro a dezembro/2022).	31
Figura 3. Índice de solubilidade de nitrogênio das proteínas de amendoim.	34
Figura I.1. Extrator em batelada de aço inoxidável.	53
Figura I.2. Extração sequencial em configuração de correntes cruzadas.	54
Figura I.3. Torta de prensagem de amendoim (PPC).	57
Figura I.4. Extração de óleo de PPC com etanol e hexano em função do número de estágios sequenciais: (a) óleo residual (RO, % em massa) nos SDs; (b) rendimento acumulado de extração do óleo de PPC (Y, %); (c) teor de água nos extratos (% em massa); (d) índice de retenção (RI, kg solução aderida/kg sólido inerte).	60
Figura I.5. Extração de óleo de PPC com etanol e hexano em função do número de estágios sequenciais: (a) teor de proteínas nos sólidos desengordurados (% mássica, base seca); (b) índice de solubilidade de nitrogênio (NSI, %) dos sólidos desengordurados.	63
Figura I.6. Óleo de amendoim obtido por prensagem a frio (CPPO), extração por solvente com hexano (POHx) e etanol (POEt).....	68
Figura I.7. Propriedades físicas dos óleos de amendoim obtidos por prensagem a frio (CPPO), extração com solvente etanol (POEt) e hexano (POHx) em função da temperatura: (a) densidade (kg/m ³); (b) viscosidade dinâmica (mPa·s); (c) tensão superficial (mN/m).....	70
Figura II.1. Fluxograma das atividades experimentais desenvolvidas para execução desta dissertação.	84
Figura II.2. Extração de proteínas dos DSEt e DSHx em função do pH e temperatura. (a) rendimento de extração de proteínas (%); (b) teor de fenólicos totais nos extratos proteicos (mg GAE/g extrato).	93
Figura II.3. Extratos proteicos obtidos a partir dos DSEt e DSHx em função do pH e temperatura. (a) extração de proteínas em pH 6,0 a 25, 50 e 75 °C; (b) extração de proteínas em pH 9,0 a 25, 50 e 75 °C.	95
Figura II.4. Teor de proteínas (%) dos concentrados proteicos liofilizados obtidos por diferentes métodos de precipitação.....	100
Figura II.5. Concentrados proteicos de amendoim obtidos a partir da precipitação isoe-létrica e diferentes métodos de precipitação alcoólica.....	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Produção mundial de grãos de amendoim de janeiro a maio/2023.	23
Tabela 2. Produção mundial de óleo e sólido desengordurado de amendoim de janeiro a maio 2023.	24
Tabela 3. Composição de aminoácidos totais (livres e proteicos) do amendoim em comparação aos aminoácidos totais da soja (mg/g matéria seca).	26
Tabela 4. Comparação dos valores de eletrólitos e minerais na composição do amendoim e sólido desengordurado.	27
Tabela I.1. Distribuição granulométrica da torta de prensagem de amendoim (PPC).	57
Tabela I.2. Rendimento de extração de óleo (Y, %), conteúdo de óleo residual (RO, %), teor de proteínas (% em massa) e índice de solubilidade de nitrogênio (NSI, %) dos sólidos desengordurados obtidos em extrações em único estágio com etanol em diferentes temperaturas.	58
Tabela I.3. Composição em ácidos graxos (% em massa) do óleo de amendoim obtido por prensagem a frio (CPPO), extração com solvente etanol (POEt) e hexano (POHx).	65
Tabela I.4. Composição provável em triacilgliceróis (% em massa) e índices de qualidade dos óleos de amendoim obtidos por prensagem a frio (CPPO), extração com solvente etanol (POEt) e hexano (POHx).	28
Tabela I.5. Composição centesimal dos sólidos desengordurados obtidos em extração sequencial com etanol em 3 estágios a 75 °C (DSEt) e com hexano em 2 estágios a 55 °C (DSHx).	71
Tabela II.1. Capacidade emulsificante e capacidade de formação de espuma com suas respectivas estabilidades para os extratos proteicos obtidos a partir do DSEt e DSHx em pH 6 e 9, a 50 e 75 °C.	97
Tabela II.2. Análise colorimétrica dos concentrados proteicos obtidos por precipitação isoeletrica e precipitação alcoólica.	101
Tabela II.3. Composição centesimal dos concentrados proteicos obtidos por diferentes métodos de precipitação.	104
Tabela II.4. Propriedades funcionais dos concentrados proteicos de amendoim.	107
Tabela II.5. Temperatura e entalpia de desnaturação de concentrados proteicos de amendoim obtidos por diferentes precipitações.	109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CE = equivalente de catequina

CPPO = óleo de amendoim obtido por prensagem a frio

d_A = densidade aparente

DS = sólido desengordurado

DSC = calorimetria diferencial por varredura

DSEt = sólido desengordurado com etanol

DSEt – IP = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação isoelétrica

DSEt – AP – N = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação alcoólica com extrato neutralizado

DSEt – AP – A = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação alcoólica com extrato alcalino

DSEt – APN – R = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação alcoólica seguida de rotaevaporação com extrato neutralizado

DSHx = sólido desengordurado com hexano

DSHx – IP = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação isoelétrica

DSHx – AP – N = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação alcoólica com extrato neutralizado

DSHx – AP – A = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação alcoólica com extrato alcalino

DSHx – APN – R = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação alcoólica seguida de rotaevaporação com extrato neutralizado

d_T = densidade real

EAI = índice de atividade de emulsão

ESI = índice de estabilidade da emulsão

Et = etanol absoluto

FAI = índice de capacidade formação de espuma

FFA = ácido graxo livre

FSI = índice de estabilidade da espuma

FLA = flavanóis totais

GAE = equivalente de ácido gálico

Hx = hexano

IV = índice de iodo

NSI = Índice de Solubilidade de Nitrogênio

OAC = capacidade de absorção de óleo

PC = fenólicos totais

POEt = óleo de amendoim obtido por extração com solvente etanol

POHx = óleo de amendoim obtido por extração com solvente hexano

PPC = torta de prensagem de amendoim

RI = índice de retenção

RO = óleo residual

TAG = triacilglicerol

VOC = compostos orgânicos voláteis

WAC = capacidade de absorção de água

SUMÁRIO

1. Introdução e justificativa	16
2. Revisão bibliográfica.....	23
2.1 Amendoim: composição e derivados	23
2.2 Alergenicidade e contaminação por aflatoxinas.....	27
2.3 Processos de extração de óleos vegetais	29
2.4 Proteínas e suas propriedades funcionais.....	33
3. Objetivos.....	45
Capítulo I - Comparação experimental entre etanol e hexano como solventes para extração de óleo de torta prensada de amendoim.....	44
I. Resumo.....	45
I. Abreviações e Siglas.....	45
I. 1. Introdução.....	46
I. 2. Materiais e Métodos.....	49
I. 2.1. Materiais.....	49
I. 2.2. Métodos.....	49
I. 2.2.1. Caracterização da torta de amendoim (PPC)	49
I. 2.2.2. Caracterização do óleo de amendoim prensado a frio (CPPO).....	51
I. 2.2.3. Extração de óleo da PPC com etanol e hexano	52
I. 2.2.4. Caracterização do extrato e das fases sólidas desengorduradas	54
I. 2.2.5. Análise estatística	56
I. 3. Resultados e discussão	56
I. 3.1. Caracterização da torta de prensagem de amendoim (PPC)	56
I. 3.2. Extrações de óleo em lote de estágio único de PPC usando etanol como solvente.....	58
I. 3.3. Extrações de óleo sequencial de PPC usando etanol e hexano	59
I. 3.4. Caracterização do óleo de amendoim	64
I. 3.5. Caracterização do sólido desengordurado de amendoim.....	71
I. 4. Conclusões.....	72
I. 5. Referências bibliográficas	73
Capítulo II - Estudo do uso do etanol como agente precipitante de proteínas de amendoim obtidas de sólidos desengordurados por diferentes solventes	79
II. Resumo	80

II. Abreviações e Siglas	80
II. 1. Introdução	81
II. 2. Materiais e Métodos	85
II. 2.1. Materiais	85
II. 2.2. Métodos	85
II. 2.2.1. Extração de Proteínas	85
II. 2.2.2. Caracterização das fases extrato e refinado	86
II. 2.2.3. Precipitação de Proteínas.....	88
II. 2.2.3.1. Precipitação isoelétrica	88
II. 2.2.3.2. Precipitação alcoólica.....	89
II. 2.2.3.3. Rotaevaporação	89
II. 2.2.3.4. Cinética da precipitação alcoólica.....	90
II. 2.2.4. Caracterização das proteínas liofilizadas.....	90
II.2.2.5. Análise estatística.....	92
II. 3. Resultados e discussão.....	93
II. 3.1. Extração de proteínas	93
II. 3.2. Precipitação de proteínas	98
II. 3.3. Caracterização dos concentrados proteicos	103
II. 4. Conclusões	110
II. 5. Referências bibliográficas.....	111
4. Conclusões Gerais	115
5. Sugestões Para Trabalhos Futuros.....	116

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A produção de alimentos com insumos de origem animal tem contribuído para preocupações de parte da população por questões ambientais. Nota-se que o consumo de carne vermelha vem crescendo anualmente, resultando em aumento na extensão de terras utilizadas para pastagem e na utilização de recursos como energia e água (GODFRAY et al., 2018).

Como exemplo, para a obtenção de proteínas de origem animal, os montantes de energia e água doce utilizados excedem os montantes necessários para a obtenção de proteínas de origem vegetal (VAN DER GOOT et al., 2016). Segundo Aleksandrowicz *et al.* (2016), a mudança no hábito alimentar da população, das dietas ocidentais para uma alimentação sustentável, é capaz de reduzir em 50% o uso de água na produção dos alimentos.

Mudanças na alimentação da população têm evidenciado uma busca por alimentação saudável baseada em fontes vegetais, como hortaliças e grãos. A alimentação sustentável requer uma maior produção vegetal que, conseqüentemente, provoca buscas por alternativas pela indústria alimentícia (GODFRAY et al., 2018; PIMENTEL; PIMENTEL, 2003), sendo benéfica também para o meio ambiente, provocando redução no uso de terras e água, na emissão de gases de efeito estufa e, também, na contaminação da água por nitrogênio e fósforo, dentre outros (ALEKSANDROWICZ et al., 2016).

A produção de concentrados proteicos a partir de fontes vegetais proporciona à indústria novas fontes de proteínas para formulação e fortificação de novos produtos. A fortificação de proteínas se faz muito importante, principalmente em se tratando de países em desenvolvimento, uma vez que as proteínas de origem animal estão se tornando cada vez mais valorizadas (CHARLEBOIS; McCORMICK; JUHASZ, 2016; RAMPAL, 2018; WU et al., 2009; YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007).

O concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado de amendoim (DPS, sigla do termo em inglês para *defatted peanut solid*), proporcionaria uma opção viável para as indústrias, com um produto abundante em proteínas e repleto de aminoácidos essenciais e que pode vir a ser obtido a baixo custo dependendo da tecnologia utilizada e da disponibilidade de matéria-prima (WU et al., 2009; YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007).

O DPS é coproduto da etapa de extração do óleo do amendoim com solventes. Esse produto é subutilizado quando há contaminação por aflatoxinas e, também, devido

à presença de resíduos de solvente. Devido a esses possíveis problemas, o DPS é destinado para uso como fertilizantes ou suplemento para ração animal (MA et al., 2017; YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007), uma vez que possui altas concentrações de proteínas degradáveis no rúmen (bovinos) (DEPIERI, 2019).

Industrialmente, os óleos de matrizes vegetais podem ser obtidos por diferentes formas. A extração realizada de forma mecânica, como a prensagem, é realizada para matrizes oleaginosas com alto teor de lipídeos, tal como amendoim, girassol, entre outras. A extração com solventes, por sua vez, é empregada para materiais com cerca de 20% de lipídios, tal como a soja, podendo ser empregada em tortas de prensagem a fim de extrair lipídios remanescentes. As junções desses processos visam aumentar o rendimento de extração dos lipídeos presentes na matéria-prima (OLIVEIRA et al., 2012; RUSSIN et al., 2011; TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012).

A mistura de isômeros do n-hexano, conhecida comercialmente como hexano ou hexana é o solvente mais utilizado na indústria de óleos. O hexano apresenta alta estabilidade térmica e química, baixa corrosão de equipamentos, alta capacidade de solubilização de lipídios, baixo índice de retenção, baixa ou nenhuma interação com proteínas, é de fácil recuperação e proporciona obtenção de DS de boa qualidade, com baixo teor de lipídios (OLIVEIRA et al., 2012; RUSSIN et al., 2011; TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012).

Porém, o hexano possui desvantagens que devem ser consideradas durante seu uso, como efeito neurotóxico, sendo este solvente classificado pela *US Food and Drug Administration* (FDA, 2017) como Classe 2. Esta classificação denota que a exposição diária a este solvente deve ser limitada a 2,9 mg/dia, devido à alta toxicidade, além do alto risco de explosão, poluição ambiental e o fato de ser obtido a partir de uma fonte não-renovável (petróleo) (BESSA et al., 2017; FDA, 2017).

Por esses motivos, há uma intensa busca por solventes alternativos que sejam capazes de substituir o hexano no processo industrial de extração de óleos vegetais. Dentre os possíveis solventes, destacam-se os fluidos supercríticos, líquidos iônicos e misturas eutéticas, solventes fluorados, 2-metiloxolano (2-MeOx), 2-metiltetra-hidrofurano (Me-THF), fluidos pressurizados, carbonato de dimetila, éter ciclopentil metílico e álcoois de cadeia curta com exceção do metanol (BAÜMLER; CARRÍN; CARELLI, 2016; GAS-PARETTO; DE CASTILHOS; SALAU, 2022; OKIYAMA et al., 2019; RAPINEL et al., 2020; SICAIRE et al., 2015; ZHUANG et al., 2018).

O etanol, um álcool de cadeia curta com potencial para a substituição do hexano, dispõe de vantagens tanto do ponto de vista ambiental quanto de segurança, uma vez que pode ser produzido por processos biotecnológicos. Classificado pela *US Food and Drug Administration* (FDA, 2017) como Classe 3, apresenta menor toxicidade que o hexano e representa menor risco para a saúde humana, além de ser menos explosivo e estar disponível em grandes quantidades e a baixo custo no Brasil (BESSA et al., 2017; JOHNSON; LUSAS, 1985; RAO et al., 1955; RAPINEL et al., 2020; RUSSIN et al., 2011; SICAIRE et al., 2015; ZHUANG et al., 2018).

Porém, o etanol também apresenta desvantagens na sua utilização, tais como solubilidade parcial com lipídios, extração de compostos não-lipídicos como água, carboidratos e pigmentos, entre outros, desnaturaçãõ da fração proteica contida na matriz oleaginosas durante a extração do óleo e necessidade de maior calor latente para a vaporização na etapa de recuperação do solvente (BESSA et al., 2017; CAPELLINI et al., 2021; SOARES; OKIYAMA; RODRIGUES, 2020; WU et al., 2009).

Estudos recentes têm avaliado a aplicação do etanol como solvente e os impactos no processo de extração de lipídios de oleaginosas, assim como para extração de óleo remanescente de tortas de prensagem. Dentre estes materiais, pode-se citar a torta de prensagem da castanha do Brasil (SAMPAIO NETO et al., 2018), sementes de girassol e abóbora (CARABALLO; ROHM; STRUCK, 2023), nozes de macadâmia (NAVARRO; RODRIGUES, 2018) e baru (ARACAVA et al., 2022). De maneira geral, os autores constataram que o uso do solvente renovável implica em maior quantidade de óleo residual nos sólidos desengordurados e que o rendimento é dependente da temperatura e número de estágios empregados no processo (SAMPAIO NETO et al., 2018; CARABALLO; ROHM; STRUCK, 2023; NAVARRO; RODRIGUES, 2018; ARACAVA et al., 2022).

Quanto ao amendoim, estudos avaliaram o desempenho do solvente alcoólico na extração de óleo dos grãos, comparando com o solvente tradicional. Arnold e Choudhury (1962) e Desmarina *et al.* (2021) relataram maior extração de compostos não-lipídicos com etanol. Em relação a extração com utilização de etanol do óleo residual contido nas tortas de prensagem de grãos de amendoim, os estudos são raros, tal como o estudo de Fonseca e Regitano-d'Arce (1993), no qual a capacidade do etanol hidratado em extrair aflatoxinas concomitantemente ao óleo foi avaliada. Dessa forma, mostra-se necessária a condução de estudo sistematizado com comparação entre os desempenhos de etanol e

hexano na extração do óleo, bem como características dos óleos e sólidos desengordurados obtidos. Conforme mencionado, o DPS pode ser utilizado para a obtenção subsequente de concentrados proteicos.

A produção de concentrados e/ou isolados proteicos é de grande interesse para a formulação e fortificação de produtos. O isolado proteico se caracteriza por conter no mínimo 90% de proteínas, em base seca, enquanto que a composição de um concentrado proteico deve ser de, no mínimo, 65% de proteínas, ambos podendo ser obtidos a partir de sólidos desengordurados (LUI, 2004; SHAHIDI, 2005; WANG; JOHNSON; WANG, 2004).

Tradicionalmente, a obtenção de isolados e concentrados proteicos é realizada por extração em solução alcalina e precipitação isoelétrica. Diferentes estratégias de extração e precipitação têm sido investigadas a fim de se obter melhores rendimentos e minimizar o alto custo de produção e geração de resíduos. Dentre eles, destacam-se a extração enzimática aquosa, extração assistida por ultrassom, líquidos iônicos e misturas eutéticas. Na etapa de precipitação das proteínas, etapa subsequente a extração, tem-se investigado o uso de precipitação alcoólica (etanol aquoso) ou métodos físicos, tais como membranas (BOUKID, 2022; SEGATTO et al., 2022).

Na precipitação isoelétrica, processo mais utilizado industrialmente, a adição de álcali e ácido, respectivamente, promove a extração e, posteriormente, a precipitação das proteínas. Para isso, é realizado o ajuste de pH em determinada faixa, onde há o equilíbrio das cargas e, conseqüentemente, a precipitação das proteínas (BOUKID, 2021; SEGATTO et al., 2022).

Formas alternativas de precipitação podem ser utilizadas, tais como com a utilização do etanol, que promove a agregação das proteínas devido à redução da constante dielétrica do meio. Estudos têm evidenciado que a utilização do etanol na etapa de precipitação pode levar a produção de concentrados com melhor capacidade de absorção de água e de óleo (KANEKO; ISHII, 1980; SESSA; NELSEN; SNYDER, 1998).

Alguns trabalhos reportam a obtenção de proteínas a partir do DPS avaliando a influência de vários parâmetros na extração das proteínas, assim como diferentes métodos de precipitação utilizando o etanol absoluto como agente precipitante (GAYOL et al., 2013; KANEKO; ISHII, 1980). Alguns trabalhos sugerem a utilização de etanol para remoção de carboidratos solúveis, indicando a capacidade de lixiviação desses compostos por este solvente (GAYOL et al., 2013; WU et al., 2009).

Como observado nos trabalhos mencionados, há trabalhos que utilizaram etanol ou para extração de óleo ou como adjuvante na etapa de preparação de concentrados de proteínas. Entretanto, não são reportados trabalhos que avaliem o uso do etanol em ambas as etapas de processo, como solvente para extração de óleo de amendoim remanescente em torta de prensagem e como agente precipitante para obtenção de concentrados proteicos.

Com base no conteúdo exposto, o objetivo desta dissertação foi obter concentrado proteico de amendoim a partir do sólido desengordurado com etanol, avaliando o desempenho do solvente renovável na extração de lipídios e, posteriormente, na precipitação de proteínas. O material proteico obtido foi submetido a caracterização em termos de composição e propriedades funcionais, de forma a avaliar o impacto da utilização de etanol nas etapas de extração de óleo e de precipitação de proteínas.

Esta pesquisa se justifica pelo desenvolvimento de um concentrado proteico com potencial para ser utilizado na indústria de alimentos, apresentando boas características funcionais, a partir do aproveitamento de um material subutilizado (sólido desengordurado), utilizando a torta de prensagem de amendoim como matéria-prima a fim de aumentar a oferta de proteínas vegetais. O etanol, por sua vez, apresenta um grande potencial devido ao preço competitivo, fácil recuperação no processo, ser proveniente de fontes renováveis e o fato de que o Brasil é um grande produtor deste tipo de solvente.

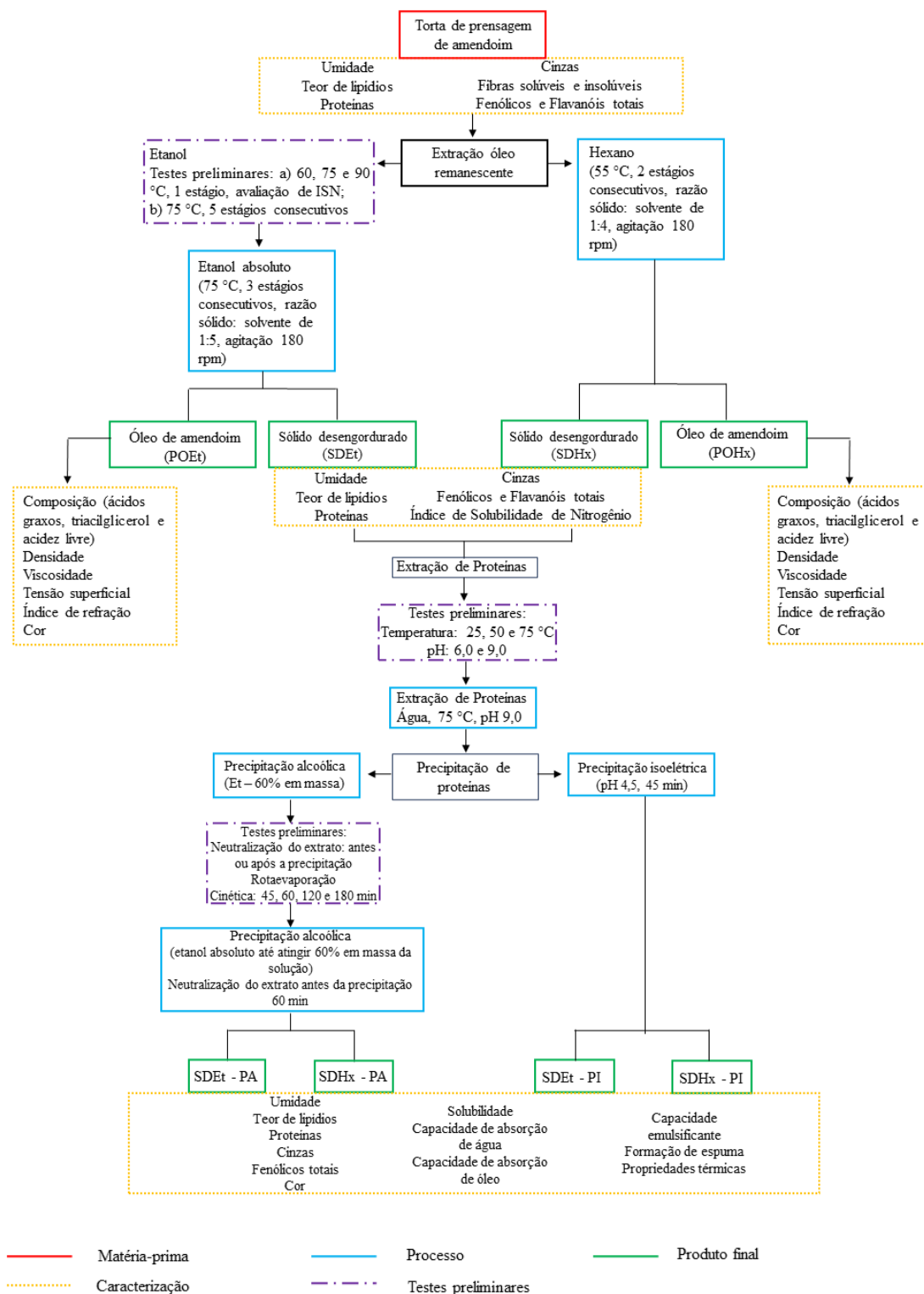
No Capítulo I desta dissertação é apresentado o estudo comparativo entre etanol e hexano como solventes para a extração do óleo remanescente da torta de prensagem de amendoim. Condições de temperatura e número de estágios de contato foram determinadas a partir de testes preliminares com extrações de único estágio e sequencial em correntes cruzadas, respectivamente, com etanol absoluto como solvente. Os óleos de amendoim (da sigla em inglês, *peanut oil*, PO) obtidos com etanol e hexano (POEt e POHx) foram caracterizados quanto a composição em ácidos graxos e triacilgliceróis e teor de acidez livre, além das propriedades físicas (densidade, viscosidade, tensão superficial, índice de refração e cor). Estes óleos foram comparados com o óleo obtido da etapa de prensagem a frio dos grãos de amendoim. Os sólidos desengordurados (da sigla em inglês, *defatted solid*, DS) provenientes das extrações com solventes (DSEt e DSHx) foram caracterizados quanto a sua composição para posterior utilização para a extração das proteínas.

No Capítulo II é apresentado estudo sobre a obtenção de concentrados proteicos de amendoim a partir dos sólidos desengordurados (DSEt e DSHx). Com base em testes

preliminares, as extrações foram realizadas em pH alcalino seguido de diferentes métodos de precipitação de proteínas, com adição de etanol absoluto e com abaixamento do pH para ponto isoelétrico, sendo este último o método convencional, realizado para fins de comparação. Na precipitação alcoólica, buscou-se avaliar o impacto da neutralização do extrato assim como o emprego da rotaevaporação. Os concentrados proteicos obtidos foram analisados quanto a sua composição e propriedades funcionais.

A Figura 1 apresenta um fluxograma das atividades desenvolvidas na execução deste trabalho.

Figura 1. Fluxograma das atividades experimentais desenvolvidas para execução desta dissertação.



Fonte: própria autoria.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Amendoim: composição e derivados

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é um grão mundialmente produzido e consumido. Pertence à família das leguminosas *Fabaceae*, porém é considerado uma oleaginosa devido ao seu alto teor de óleo (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016). É muito utilizado na agricultura para a renovação de áreas de pastagens e canaviais, uma vez que a oleaginosa promove a fixação de nitrogênio no solo (EMBRAPA, 2019a).

A China é o maior produtor mundial de amendoim, óleo e sólido desengordurado (DPS), seguida pela Índia. Atribui-se a maior produção na região asiática por ser muito apreciado na culinária, principalmente em se tratando do óleo de amendoim, pois o mesmo apresenta sabor diferenciado e fragrância delicada (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016).

O Brasil, por sua vez, é o segundo país com maior produção da oleaginosa na América do Sul, atrás apenas da Argentina (USDA-FAS, 2023). No território brasileiro, o estado de São Paulo é o maior produtor, concentrando mais de 90% de toda a produção nacional (EMBRAPA, 2019a), sendo a variedade do tipo “Runner” produzida no país (EMBRAPA, 2019b). No Brasil grande parte da produção de amendoim, cerca de 50%, é processada para a obtenção do óleo de amendoim colocando o país em 6º lugar no ranking mundial de produção de óleo (USDA-FAS, 2023).

A produção mundial de amendoim, óleo e sólido desengordurado de janeiro a maio de 2023 é demonstrada nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Produção mundial de grãos de amendoim de janeiro a maio 2023.

<i>Ranking</i>	<i>País</i>	<i>Safra 2023 (K.MT)</i>
1º	China	18.300
2º	Índia	6.600
8º	Argentina	1.320
11º	Brasil	890

K.MT: mil toneladas métricas

Fonte: USDA – FAS (PSD Online)

<<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/statsByCommodity>>. Acesso em: 18/06/2023.

Tabela 2. Produção mundial de óleo e sólido desengordurado de amendoim de janeiro a maio 2023.

<i>Ranking</i>	<i>País</i>	<i>Produção de óleo de amendoim (K.MT)</i>	<i>Produção de sólido desengordurado de amendoim (K.MT)</i>
1°	China	3.264	4.080
2°	Índia	1.205	1.529
6°	Brasil	147	149
10°	Argentina	80	117

K.MT: mil toneladas métricas

Fonte: USDA – FAS (PSD Online)

<<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/statsByCommodity>>. Acesso em: 18/06/2023.

A leguminosa apresenta um perfil nutricional que vem despertando o interesse de pesquisadores, sendo o amendoim cru composto por lipídios (45%), proteínas (24%), carboidratos (16%), fibras insolúveis (8,5%) e umidade (6,5%) (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016; LATIF et al., 2013), além da presença de compostos minoritários bioativos como resveratrol (1,6–3,7 µg/g) (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016; SANDERS; MCMICHAEL; HENDRIX, 2000; SURI et al., 2019).

O óleo de amendoim pode ser obtido por meio dos grãos crus sem pele ou torrados, por prensagem mecânica e/ou extração com solventes (MA et al., 2017). Na China, o principal método utilizado para a obtenção do óleo de amendoim é a prensagem mecânica a 95 – 115 °C, possibilitando a obtenção de sólido com óleo residual variando entre 6 e 10%. No entanto, esse processo pode causar o escurecimento do sólido desengordurado devido à temperatura empregada, que favorece a reação de escurecimento (TU; WU, 2020).

O perfil lipídico do amendoim associado aos compostos minoritários bioativos que podem estar presentes no óleo como tocoferóis (137–934 mg/kg) e esteróis (900–4344 mg/kg) pode ser benéfico à saúde (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016; HU et al. 2016). Sua composição consiste em ácidos graxos insaturados, estando presentes os ácidos oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e gadoleico (C20:1), os quais representam cerca de 80% do total de ácidos graxos (FIRESTONE, 2013). Os ácidos graxos saturados representam cerca de 10% do óleo de amendoim, sendo estes representados pelo ácido palmítico

(C16:0), esteárico (C18:0), araquídico (C20:0), beênico (C22:0) e lignocérico (C24:0) (FIRESTONE, 2013; ZHANG et al., 2021).

O sólido desengordurado (DS) de amendoim, subproduto do processo de extração do óleo, possui uma composição com alto teor de proteínas (50% a 55%) e baixos valores de óleo residual (0,55%) quando realizada a extração do óleo com solvente (JIANG et al., 2010; LIU et al., 2019; MA et al., 2017; YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007). O aproveitamento do DS muitas vezes se destina à ração animal e fertilizantes, uma vez que o método de extração utilizado pode resultar em solvente residual no sólido e/ou modificação das propriedades funcionais da proteína (JIANG et al., 2010; LIU et al., 2019; MA et al., 2017; YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007).

Para a utilização como ração animal, o sólido desengordurado deve conter no máximo 20 µg/kg de aflatoxina total, 420 - 540 g/kg de proteína bruta, 60 - 160 g/kg de fibra bruta, 70 - 120 g/kg de umidade, 35 - 80 g/kg de matéria mineral e apresentar cor amarelo claro, dentre outros parâmetros de segurança e qualidade (ABINPET, 2017).

Devido à escassez de informações sobre resíduo de hexano presente no sólido desengordurado destinado à ração animal, pode-se utilizar como referência os valores estabelecidos pela FDA (2019) para alimentação humana, sendo de 25 mg/kg para oleorresinas e < 5,0 mg/kg para óleos e gorduras (FDA, 1982).

As proteínas são constituídas de aminoácidos essenciais. A Tabela 3 apresenta os conteúdos de aminoácidos totais (livre e proteico) presentes no amendoim em comparação com os valores de aminoácidos totais presentes na soja (HOU et al., 2019). Dentre os grãos, o amendoim se destaca em relação ao valor de arginina, que auxilia na desintoxicação do fígado, fortalecimento do sistema imunológico, e a manutenção da saúde da pele, articulações e dos músculos (WU et al., 2009).

Os valores de eletrólitos e minerais são apresentados na Tabela 4. Nota-se que há um aumento significativo nos valores de sódio e potássio, assim como para os valores de fósforo e magnésio com a obtenção do sólido desengordurado.

Tabela 3. Composição de aminoácidos totais (livres e proteicos) do amendoim em comparação aos aminoácidos totais da soja (mg/g matéria seca).

<i>Aminoácidos</i>	<i>Aminoácidos (AA) do amendoim</i>			<i>Aminoácidos totais da soja</i>
	<i>AA livres</i>	<i>AA proteicos</i>	<i>AA totais</i>	
<i>Essenciais</i>				
Arginina (Arg)	0,781	34,71	35,5	37,2
Histidina (His)	0,0358	6,94	6,98	12,7
Isoleucina (Ile)	0,088	10,71	10,8	23,9
Leucina (Leu)	0,136	17,96	18,1	40
Lisina (Lys)	0,0838	9,89	9,98	32,6
Metionina (Met)	0,034	3,39	3,43	6,43
Fenilalanina (Phe)	0,164	14,63	14,8	25,6
Treonina (Thr)	0,0897	8,03	8,12	20,9
Valina (Val)	0,108	12,59	12,7	24,6
Triptofano (Trp)	0,024	2,69	2,72	7,02
Total essenciais	1,5443	121,54	123,1	230,95
<i>Não essenciais</i>				
Aspartato (Asp)	0,128	14,07	14,2	37,3
Serina (Ser)	0,096	14,3	14,4	30,2
Glutamina (Glu)	0,572	28,02	28,6	52,6
Glicina (Gly)	1,082	17,91	19	24
Prolina (Pro)	0,0607	16,43	16,5	28,4
Alanina (Ala)	0,344	12,05	12,4	22,9
Cisteína (Cys)	0,0285	4,12	4,15	7,67
Tirosina (Tyr)	0,0805	10,91	11	18,4
Total não essenciais	2,3917	117,81	120,3	221,47

Fonte: HOU, Y.; HE, W.; HU, S.; WU, G. Composition of polyamines and amino acids in plant-source foods for human consumption. **Amino Acids**, v. 51, p. 1153, 2019.

Tabela 4. Comparação dos valores de eletrólitos e minerais na composição do amendoim e sólido desengordurado.

		Amendoim	Sólido desengordurado
Eletrólitos (por 100 g material)	Sódio (mg)	18	180
	Potássio (mg)	705	1290
Minerais (por 100 g material)	Ferro (mg)	4,58	2,1
	Fósforo (mg)	376	760
	Magnésio (mg)	168	370
	Zinco (mg)	3,27	5,1
	Cálcio (mg)	92	140
	Selênio (µg)	7,2	7,1

Fonte: United States Department of Agriculture (USDA) – Foreign Agricultural Service. **Food and Nutrient Database for Dietary Studies – Ingredient Nutrient Values** (2015-2016).

Disponível em: < <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md-bhnrc/beltsville-human-nutrition-research-center/food-surveys-research-group/docs/fndds-download-databases/>>. Acesso em: 18/06/2023.

O potássio e magnésio, juntamente com a arginina, ácidos graxos insaturados e compostos bioativos, são capazes de reduzir a pressão arterial e processos inflamatórios no sangue (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016).

O amendoim possui em sua composição os fosfolipídios, sendo a fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina e ácido fosfatídico, nas proporções de 59,3%, 27,7%, 11% e 2%, respectivamente. Segundo Zhao *et al.* (2020), o conteúdo de fosfolipídios totais decresce durante o processamento físico dos grãos, como pré-moagem e trituração. Este decréscimo é resultado da facilitação da ação de enzimas como lipase, lipoxigenase e fosfolipase, ocasionada pela ruptura celular durante os processamentos físicos.

2.2 Alergenicidade e contaminação por micotoxinas

Embora o amendoim apresente um bom perfil nutricional, resultando em um óleo com composição balanceada em termos de ácidos graxos e sólido desengordurado com alto valor proteico e aminoácidos essenciais, alguns problemas estão relacionados à cultura e consumo do mesmo.

A alergia ao amendoim é um problema bastante comum na população, principalmente a asiática, devido ao seu alto consumo. Suas proteínas foram classificadas em albuminas ou globulinas, sendo a segunda a principal constituinte da leguminosa, com cerca de 87%, e compostas por araquina e conaraquina (LATIF et al., 2013).

Foram detectadas e enumeradas onze proteínas alergênicas presentes no *A. hypogaea*, sendo as principais Ara h 1 (globulina 7 S) e Ara h 2 (albumina 2 S) (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016; LATIF et al., 2013). Vários são os esforços para reduzir a alergenicidade do amendoim, dentre eles tratamento enzimático e até mesmo mutações genéticas (YU et al., 2011).

A reação alérgica ao amendoim é uma das mais graves, sendo responsável por cerca de 59% das mortes causadas por alergias alimentares. Isso se deve ao fato de que pequenas quantidades de amendoim são suficientes para desencadear reações nas pessoas com alergia (LI et al., 2013).

No que diz respeito às aflatoxinas, estas são metabólitos secundários produzidos por fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, sendo as principais as aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ (BLESA et al., 2003).

A contaminação por fungos que produzem micotoxinas é algo evitável, porém necessita de muitos cuidados, principalmente no amendoim, uma vez que as condições de temperatura e umidade no transporte e armazenamento da leguminosa favorecem a proliferação dos fungos (FAN et al., 2013).

O controle para evitar a produção de aflatoxinas deve ser feito durante o processo de armazenamento do amendoim, evitando o crescimento dos fungos, uma vez que a contaminação pode ocorrer durante a colheita. Quando o material já está contaminado, se faz necessária a degradação da substância com métodos físicos, químicos ou biológicos (RASTEGAR et al., 2017).

A FDA dos EUA estabeleceu um limite máximo de 20 µg/kg para a presença de aflatoxinas nos produtos alimentícios à base de amendoim (FDA, 2005). Estes compostos altamente tóxicos, mutagênicos e cancerígenos, apresentam relativa insolubilidade em solventes apolares, tais como o hexano. Quando o amendoim é submetido à etapa de extração do óleo com o solvente tradicionalmente utilizado (hexano), as aflatoxinas não são removidas e ficam retidas no sólido desengordurado (BORDIN et al., 2014; RASTEGAR et al., 2017), tornando-o prejudicial à alimentação humana.

Um estudo sobre descontaminação de pistaches por aflatoxinas foi realizado por Rastegar *et al.* (2017). Os autores demonstraram a eficácia do pré-tratamento com ácido

cítrico e cloreto de sódio, seguido de torrefação, na degradação de aflatoxinas. Mesmo não eliminando totalmente as micotoxinas, o método proposto resulta diretamente na diminuição da quantidade diária ingerida pelos consumidores.

Seifert *et al.* (2010) testaram a eficácia da argila de bentonita para o sequestro de aflatoxinas durante o processo de extração de proteínas do sólido desengordurado de amendoim. O estudo apresentou que a argila foi eficiente, pois houve uma diminuição na quantidade de AFB₁, porém resultou também em uma diminuição da solubilidade da proteína, uma vez que esta também se liga à argila de bentonita.

2.3 Processo de extração de óleos vegetais

A extração de óleo do amendoim pode ser realizada por prensagem mecânica e/ou por meio da utilização de solvente. O solvente mais utilizado industrialmente é uma mistura de isômeros do n-hexano, conhecido como hexano ou hexana, proveniente da destilação do petróleo (OLIVEIRA *et al.*, 2012; RUSSIN *et al.*, 2011; TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012).

O hexano apresenta comportamento apolar e várias vantagens, dentre elas, alta estabilidade, baixa corrosão de equipamentos, alta capacidade de solubilização de lipídios possibilitando, conseqüentemente, a obtenção de sólido desengordurado com baixo teor de lipídios (OLIVEIRA *et al.*, 2012; RUSSIN *et al.*, 2011; TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012). Porém, a utilização deste solvente de origem fóssil para a obtenção de óleos vegetais tem se tornado uma preocupação. É considerado uma substância nociva, uma vez que a inalação afeta o sistema nervoso central e causa problemas de fertilidade (LI *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2012; RUSSIN *et al.*, 2011; TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012).

A emissão de vapores de hexano durante a prática industrial também favorece a poluição ambiental devido à sua capacidade de reagir com outros poluentes formando oxidantes fotoquímicos (LI *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2012; RUSSIN *et al.*, 2011; TIR; DUTTA; BADJAH-HADJ-AHMED, 2012).

Pesquisas têm buscado novas substâncias para serem utilizadas como solventes alternativos, substituindo assim o hexano. Para serem utilizados como solvente, os compostos alternativos devem apresentar alguns requisitos, dentre eles, suprimento abundante e baixo custo, baixa inflamabilidade, eficiência na extração de óleo, segurança ambiental

e em termos de toxicidade humana, facilidade de recuperação para reuso no processo e ser quimicamente estável (RUSSIN et al., 2011).

Dentre os possíveis solventes alternativos citados na literatura, podem ser citados os fluidos supercríticos, líquidos iônicos e misturas eutéticas, solventes fluorados, 2-metiloxolano (2-MeOx), 2-metiltetra-hidrofurano (MeTHF), fluídos pressurizado, carbonato de dimetila, éter ciclopentil metílico e álcoois de cadeia curta (BAÜMLER; CARRÍN; CARELLI, 2016; GASPARETTO; CASTILHOS; SALAU, 2022; OKIYAMA et al., 2019; RAPINEL et al., 2020; SICAIRE et al., 2015; ZHUANG et al., 2018).

Os álcoois de cadeia curta, dentre eles etanol e isopropanol, têm apresentado boa capacidade para a extração de óleos vegetais a partir de diferentes matrizes oleaginosas, como gergelim, farelo de arroz, girassol (BAÜMLER; CARRÍN; CARELLI, 2016; CAPELLINI et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2012). Estes álcoois são capazes de formar misturas azeotrópicas com água, o que favorece a recuperação da mistura azeotrópica por destilação simples (CAPELLINI et al., 2017; CAPELLINI et al., 2020; CITEAU et al., 2019). Os álcoois possuem uma maior capacidade de solubilizar compostos polares ou de certa polaridade, como fosfolipídios, pigmentos, carboidratos, proteínas e aflatoxinas (CAPELLINI et al., 2017; CITEAU et al., 2019; JOHNSON; LUSAS, 1983).

O uso do etanol no processo de extração de óleos vegetais pode proporcionar a obtenção de sólido com características sensoriais melhoradas, como ausência de sabor amargo, cor mais clara e diminuição de açúcares causadores de flatos (TATE et al., 1990). Além disso, este solvente possui baixa toxicidade, sendo classificado pela U.S. *Food and Drug Administration* (FDA, 2017) como Classe 3, ou seja, menos tóxico que o hexano, representando menor risco para a saúde humana. É menos inflamável e explosivo que o hexano, além de poder ser obtido de fontes renováveis tais como cana de açúcar ou milho via processo biotecnológico (BAÜMLER; CARRÍN; CARELLI, 2016; BESSA et al., 2017).

A extração de óleo de amendoim utilizando o etanol como solvente foi estudada por Arnold e Choudhury (1962). Os autores testaram três solventes, sendo hexano, etanol 95% e etanol absoluto em dois tamanhos de grãos, uma vez que, ao entrar em contato com o solvente, o amendoim origina um pó difícil de manusear em extrator contínuo.

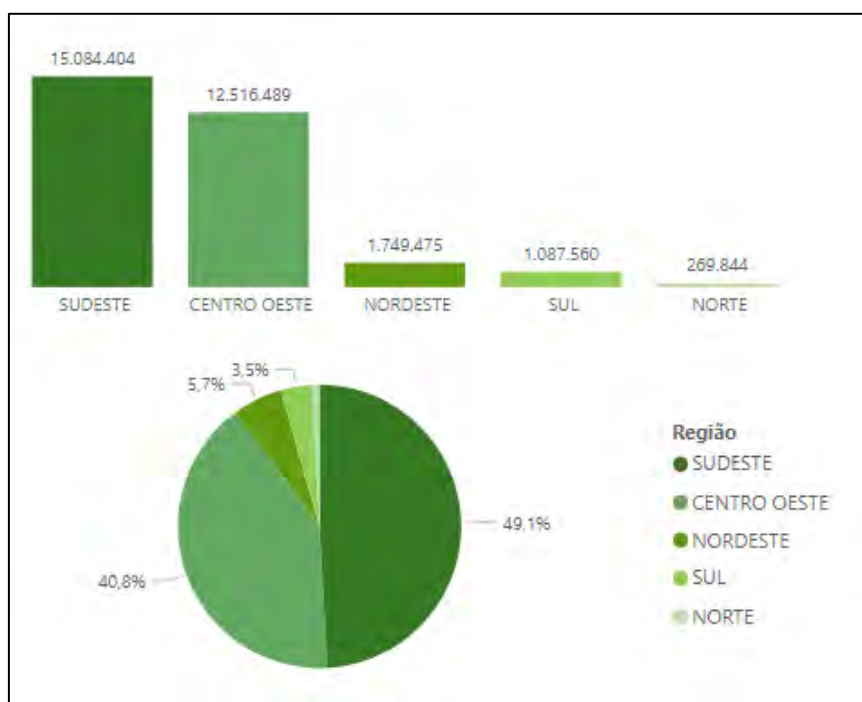
Durante o processo de extração em temperatura de 72 °C, o óleo de amendoim foi completamente miscível em etanol absoluto e apresentou miscibilidade 20% menor em etanol 95%. Em contrapartida, os autores notaram que extraíndo o óleo utilizando etanol 95% a 72 °C e etanol absoluto a 43 °C, não apresentaram diferença de solubilidade. Os

números reforçam os resultados obtidos por Rao *et al.* (1955), onde o óleo de amendoim apresentou completa miscibilidade em etanol 99,9% na temperatura de 70 °C.

Etanol está disponível em grandes quantidades e a custos relativamente baixos, principalmente no Brasil que é o segundo maior produtor de etanol, atrás apenas dos EUA. No Brasil, o Sudeste é a região da Federação com maior produção de etanol, seguida pelo Centro Oeste, como demonstra a Figura 2.

De janeiro e dezembro de 2022, a produção nacional total de etanol foi de 30,7 milhões de m³ (ANP, 2023a, 2023b, 2023c; BAÜMLER; CARRÍN; CARELLI, 2016; BESSA et al., 2017).

Figura 2. Produção nacional de etanol (janeiro a dezembro/2022).



Fonte: ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Produção e Fornecimento de Biocombustíveis – Painel Dinâmico de Produtores de Etanol.** Junho, 2023a.

Como desvantagem, o etanol necessita de maior quantidade de energia para vaporização na etapa de recuperação do solvente, em comparação com o hexano. No entanto, sua alta miscibilidade com óleo em temperaturas elevadas e baixa miscibilidade em temperatura ambiente pode possibilitar uma pré-separação das fases óleo e solvente (ou des-solventização parcial), desonerando a etapa térmica de separação dos componentes

(BESSA et al., 2017; CAPELLINI et al., 2021). O etanol também apresenta como desvantagem a capacidade de desnaturar proteínas durante o processo de extração de óleo vegetal (SOARES; OKIYAMA; RODRIGUES, 2020; WU et al., 2009).

Os produtos obtidos a partir da extração alcoólica apresentaram características gerais semelhantes às dos produtos obtidos com hexano, porém enriquecidos de compostos minoritários. Tir *et al.* (2012), assim como Bäumlér, Carrín e Carelli (2016), demonstraram em testes com vários solventes, que óleos extraídos com etanol apresentaram altos valores de tocoferol e esteróis em comparação aos valores obtidos com extração com hexano.

De acordo com Hron *et al.* (1994), a utilização do etanol 95% na extração de óleo de sementes de algodão demonstrou ser muito eficaz para a extração de óleo, como também para a remoção de gossipol e aflatoxinas (AF) deste tipo de material oleaginoso.

Quanto à capacidade de extração de AF apresentada em outros estudos, isso se deve à sua solubilidade em solventes polares, no caso o etanol. De acordo com o trabalho realizado por Fonseca e Regitano-d'Arce (1993), etanol com 4% de água em volume foi o mais eficaz para a remoção das AFs do sólido desengordurado de amendoim, uma vez que a adição de água no solvente aumenta o comportamento polar do mesmo. O estudo comparou diferentes valores de hidratação do solvente com tempo entre 90 e 300 minutos.

O etanol hidratado foi mais eficaz que o etanol anidro, o qual não extraiu significativamente as micotoxinas, assim como foi demonstrado por Hron *et al.* (1994). Segundo o estudo realizado por Fonseca e Regitano-d'Arce (1993), etanol anidro reduziu as AFs em 50% entre 120 e 300 min, etanol a 96, 93 e 90° GL reduziram AFs para níveis não detectáveis.

A quantidade de água presente no solvente diminuiu a eficiência na extração do óleo, porém esse problema pode ser superado através da utilização de extratores com maior número de estágios de contato (CAPELLINI, 2013; OLIVEIRA; GARAVAZO; RODRIGUES, 2012).

A etapa de extração do óleo com o uso do hexano não é eficaz para a remoção das AFs, porém a utilização de etanol apresentou potencial para auxiliar na remoção das toxinas durante o processo, produzindo assim sólido desengordurado descontaminado (FONSECA, REGITANO-d'ARCE, 1993; HRON et al., 1994).

Nos óleos brutos contaminados, micotoxinas são eliminadas no processo de refino químico ou cáustico, podendo ser degradadas na etapa de desacidificação através da utilização de tratamento alcalino. Esses compostos também podem ser removidos de forma

física nas etapas de degomagem, branqueamento e desodorização, produzindo óleo refinado descontaminado (BORDIN et al., 2014; SEIFERT et al., 2010).

O etanol também é citado no contexto de processos de obtenção de produtos com alto teor proteico, na etapa de precipitação de proteínas. A aplicação do etanol na precipitação de proteínas se baseia em sua capacidade de desnaturação que, conseqüentemente, influencia nas propriedades funcionais das proteínas e na sua utilização na indústria alimentícia (KANEKO; ISHII, 1980; SESSA; NELSEN; SNYDER, 1998).

De acordo com Wu *et al.* (2009), a desnaturação causada pelo etanol afeta a solubilidade da proteína devido ao aumento da hidrofobicidade da superfície causada pelo desdobramento das moléculas.

2.4 Proteínas e suas propriedades funcionais

As propriedades funcionais das proteínas (solubilidade, capacidade de absorção de água, capacidade de absorção de óleo, emulsificação, formação de espuma, viscosidade, gelificação, entre outras) são de extrema importância para sua aplicação na indústria e variam de acordo com o produto produzido (WU et al., 2009). Estas propriedades são afetadas de acordo com as condições de extração das proteínas (temperatura, pH, força iônica, processamento e secagem), assim como pela pré-etapa de extração do óleo (LIU et al., 2019).

Proteínas com alta capacidade de absorção de óleo e de água são desejáveis para produtos de panificação, enquanto as proteínas com boa capacidade de emulsificação são ótimas para utilização em confeitaria e sobremesas, por exemplo (WU et al., 2009).

O desenvolvimento de um concentrado proteico a partir do DPS, proporcionaria uma nova fonte de proteínas para fortificação e formulação de produtos. Para isso, é importante a determinação das suas propriedades funcionais, e a correlação destas às etapas de extração do óleo e de produção dos concentrados proteicos (YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007).

A propriedade de solubilidade das proteínas apresenta grande importância para a indústria, tanto na proposição de formulações, quanto para a extração propriamente dita das proteínas da matriz oleaginosa. De acordo com Wu *et al.* (2009), as proteínas do amendoim se tornam mais solúveis em meio ácido (pH 2,0 – 3,0) devido ao seu comportamento como cátodo hidrônio, as cargas elétricas se excluem e as moléculas ficam dispersas, assim como também se tornam mais solúveis em meio alcalino (pH 6,0 – 12,0).

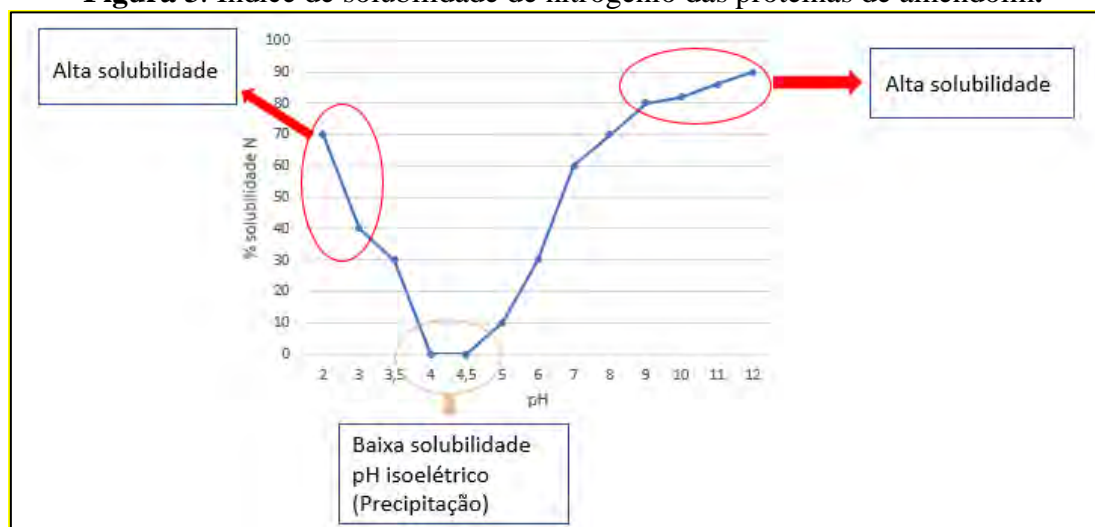
Para a obtenção de proteínas vegetais, faz-se previamente uma avaliação da curva de solubilidade com o objetivo de entender suas propriedades. Na etapa de separação das proteínas de outros componentes da matriz sólida (carboidratos, fibras insolúveis, lipídeos e outros contaminantes), é desejável a adoção de valores de pH onde a proteína esteja preferencialmente solubilizada (JIANG et al., 2010; YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007).

No caso do amendoim, a etapa de extração de proteínas ocorre sob valores de pH altos, maiores do que 9,0, conforme mostrado na Figura 3. Posteriormente, as proteínas solubilizadas precisam ser separadas dos carboidratos e outros contaminantes. O método comumente utilizado para este fim é a precipitação das proteínas por precipitação isoelétrica ou ponto de carga zero. O pH da solução contendo as proteínas extraídas é adequado para o ponto isoelétrico, levando a sua precipitação e, conseqüentemente, a separação dos carboidratos e outros contaminantes (KANEKO; ISHII, 1980; LIU et al., 2019; WU et al., 2009).

Nesta situação, as cargas estão em equilíbrio fazendo com que a solubilidade proteica ou de nitrogênio diminua. Para as proteínas do amendoim, este fenômeno ocorre em valores de pH entre 4,0 e 5,0 (KANEKO; ISHII, 1980; SESSA; NELSEN; SNYDER, 1998; WU et al., 2009).

A Figura 3 apresenta uma curva de solubilidade do nitrogênio para as proteínas do amendoim.

Figura 3. Índice de solubilidade de nitrogênio das proteínas de amendoim.



Fonte: Adaptado de Kaneko e Ishii (1980); Wu *et al.* (2009)

O processo de precipitação proteica também se torna possível a partir da adição de materiais que sejam capazes de promover a precipitação das proteínas sem necessidade de alteração de pH do meio, operação que normalmente requer a utilização de grandes volumes de reagentes (BOHÓRQUEZ, 2014; WU et al., 2009).

Para serem utilizados nessa etapa, os solventes devem ser miscíveis em água em todas as proporções e não serem tóxicos, sendo os mais utilizados a acetona e o etanol (BOHÓRQUEZ, 2014). O uso do etanol como agente precipitante provoca a redução da constante dielétrica do meio que, conseqüentemente, agrega as proteínas por interação de cargas. O método apresenta vantagens, como baixo custo capital e operacional, a possibilidade de reciclagem do etanol por destilação simples e por ser amplamente produzido no Brasil (BOHÓRQUEZ, 2014).

Kaneko e Ishii (1980) utilizaram etanol e acetona para a precipitação das proteínas para produção de concentrados proteicos de amendoim, relatando melhora em propriedades funcionais como solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo.

Capellini *et al.* (2019) demonstraram que tanto a hidratação do solvente quanto a temperatura utilizada na extração do óleo tiveram influência na solubilidade das proteínas de sementes de gergelim. Notou-se que, para o gergelim, em temperaturas entre 60 e 80 °C não houve diferenças nos valores de Índice de Solubilidade de Nitrogênio (NSI), o qual está diretamente relacionado a solubilidade proteica e a desnaturação, mantendo-se entre 56 – 75%. Porém, em temperaturas a partir de 90 °C, valores de temperatura comumente utilizados em processos pressurizados, observou-se diminuição da solubilidade proteica com a utilização de solventes hidratados, obtendo NSI entre 31 – 52%.

Alguns trabalhos sugerem a utilização do etanol para a remoção de carboidratos solúveis. Gayol *et al.* (2013) avaliaram a obtenção de proteínas da torta de prensagem de grãos de amendoim em diferentes condições de razão sólido/solvente, pH e temperatura, utilizando água e solução de NaCl como solventes de extração. Os autores aplicaram etanol na lavagem da torta a fim de remover carboidratos solúveis. Os autores relataram melhores condições para extração de proteínas da torta de amendoim com água, razão sólido/solvente de 1/10, pH 9,0 a 40 °C e precipitação em pH 4,5. O concentrado proteico obtido nas referidas condições apresentou teor de carboidratos de 0,85%.

Wu *et al.* (2009) obtiveram concentrados proteicos de amendoim a partir da farinha de amendoim comercial desengordurada com solvente composto por butano e propano. Neste trabalho, os autores utilizaram etanol para lixiviação de carboidratos solúveis de concentrados proteicos de amendoim obtidos por extração aquosa, solução alcalina e

hidroalcoólica. Os autores relataram maior capacidade de absorção de água e óleo para os concentrados obtidos após lixiviação alcoólica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABINPET. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. **Manual Pet Food Brasil – Referência em Qualidade e Segurança dos Alimentos**. 9ª edição, 2017.

ALEKSANDROWICZ, L.; GREEN, R.; JOY, E. J. M.; SMITH, P.; HAINES, A. The Impacts of Dietary Change on Greenhouse Gas Emissions, Land Use, Water Use and Health: A Systematic Review. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, 2016.

ANP. Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Produção e Fornecimento de Biocombustíveis – Painel Dinâmico de Produtores de Etanol**. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/producao-de-biocombustiveis/etanol/painel-dinamico-de-produtores-de-etanol>>. Acesso em: 18/06/2023a.

_____. **Produção de biocombustíveis: biodiesel**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/producao-de-biocombustiveis/biodiesel>>. Acesso em: 18/06/2023b.

_____. **Biocombustíveis: Etanol**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/etanol>>. Acesso em: 18/06/2023c.

ARACAVAL, K.K.; CAPELLINI, M.C.; GONÇALVES, D.; SOARES, I.D.; MARGOTO, C.M.; RODRIGUES, C.E.C. Valorization of the Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Processing Chain: Technological Properties of Defatted Nut Flour and Oil Solubility in Ethanol and Isopropanol. **Food Chemistry**, v. 383, p. 132587 – 132597, 2022.

ARNOLD, L. K.; CHOUDHURY, R. B. R. Hexane and ethanol as peanut oil solvents. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 39, n. 6, p. 296 - 297, 1962.

ARYA, S. S.; SALVE, A. R.; CHAUHAN, S. Peanuts as functional food: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 31–41, 2016.

BAÜMLER, E. R.; CARRÍN, M. E.; CARELLI, A. A. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. **Journal of Food Engineering**, v. 178, p. 190 – 197, 2016.

BESSA, L. C. B. A. FERREIRA, M. C.; RODRIGUES, C. E. C.; BATISTA, E. A. C.; MEIRELLES, A. J. A. Simulation and process design of continuous countercurrent ethanolic extraction of rice bran oil. **Journal of Food Engineering**, v. 202, p. 99-113, 2017.

BLESA, J.; SORIANO, J. M.; MOLTÓ, J. C.; MARÍN, R.; MAÑES, J. Determination of aflatoxins in peanuts by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1011, n. 1–2, p. 49–54, 2003.

BOHÓRQUEZ, M. A. M. **Avaliação do etanol como agente precipitante de glicosil hidrolases produzidas por *Trichoderma harzianum* P49P11**. Dissertação de Mestrado,

Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

BORDIN, K.; SAWADA, M. M.; RODRIGUES, C. E. C.; FONSECA, C. R.; OLIVEIRA, C. A. F. Incidence of aflatoxins in oil seeds and possible transfer to oil: a review. **Food Engineering Reviews**, v. 6, p. 20-28, 2014.

BOUKID, F. Peanut protein – an underutilised by-product with great potential: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 9, p. 5585 – 5591, 2022.

CAPELLINI, M. C.; GONÇALVEZ, D.; SOARES, I. D.; ALMEIDA, C. H.; MARGOTO, C. M.; KOSHIMA, C. C.; RODRIGUES, C. E. C. Solvent recovery from systems containing crude sesame seed oil and short-chain alcohols at different temperatures and local pressure. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 156, p. 106385 - 106395, 2021.

CAPELLINI, M. C.; NOVAIS, J. S.; MONTEIRO, R. F.; VEIGA, B. Q.; OSIRO, D.; RODRIGUES, C. E. C. Thermal, structural and functional properties of rice bran defatted with alcoholic solvents. **Journal of Cereal Science**, v. 95, p. 103067 - 103075, 2020.

CAPELLINI, M. C.; CHIAVOLONI, L.; GIACOMINI, V.; RODRIGUES, C. E. C. Alcoholic extraction of sesame seed cake oil: Influence of the process conditions on the physicochemical characteristics of the oil and defatted meal proteins. **Journal of Food Engineering**, v. 240, p. 145-152, 2019.

CAPELLINI, M. C.; GIACOMINI, V.; CUEVAS, M. S.; RODRIGUES, C. E. C. Rice bran oil extraction using alcoholic solvents: Physicochemical characterization of oil and protein fraction functionality. **Industrial Crops and Products**, v. 104, p. 133 – 143, 2017.

CAPELLINI, M. C. **Extração de óleo de farelo de arroz utilizando solventes alcoólicos: avaliação de alterações na fração proteica e na composição do óleo**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

CARABALLO, S. M.; ROHM, H.; STRUCK, S. Green Solvents for Deoiling Pumpkin and Sunflower Press Cakes: Impact on Composition and Technofunctional Properties. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 58, p. 1931–1939, 2023.

CHARLEBOIS, S.; McCORMICK, M.; JUHASZ, M. Meat consumption and higher prices: Discrete determinants affecting meat reduction or avoidance amidst retail price volatility. **British Food Journal**, v. 118, n. 9, p. 2251-2270, 2016.

CITEAU, M.; REGIS, J.; CARRÉ, P.; FINE, F. Value of hydroalcoholic treatment of rapeseed for oil extraction and protein enrichment. **Oilseeds and Fats Crops and Lipids**, v. 26, n. 1, p. 1 – 5, 2019.

DEPIERI, H. A. **Gestão das inovações tecnológicas na agroindústria do amendoim do Estado de São Paulo**. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2019.

EMBRAPA. **Publicação traz orientações para Produção Integrada de Amendoim.** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/48757940/publicacao-traz-orientacoes-para-producao-integrada-de-amendoim>>. 10/12/2019a. Acesso em: 18/06/2023.

_____. **Normas Técnicas para Produção Integrada de Amendoim.** Campina Grande – PB, 2019b.

FAN, S.; ZHANG, F.; LIU, S.; YU, C.; GUAN, D.; PAN, C. Removal of aflatoxin B1 in edible plant oils by oscillating treatment with alkaline electrolysed water. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3118-3123, 2013.

FIRESTONE, D. **Physical and chemical characteristics of oils, fats and waxes.** 3 ed. United States of America: David Firestone, 2013.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Q3C – Tables and List Guidance for Industry. U.S. Dep. Heal. Hum. Serv. Food Drug Adm. 2017. Disponível em: <<https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm073395.pdf>>. Acesso em: 18/06/2023.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **CPG Sec. 173.270:** Food additive status list. 2019.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **CPG Sec. 570.375:** Aflatoxin in peanuts and peanut products. 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Codex Alimentarius Commission:** report of the twelfth session of the Codex Committee on fats and oils. London, 19-23 April 1982.

FONSECA, H.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Aflatoxin removal of peanut meals with aqueous ethanol. **Scientia Agricola**, v. 50, n. 1, p. 154-156, 1993.

GASPARETTO, H.; CASTILHOS, F.; SALAU, N. P. G. Recent advances in green soybean oil extraction: a review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 361, p. 119684 – 119696, 2022.

GAYOL, M. F. et al. Optimization of the protein concentration process from residual peanut oil-cake. **Grasas y Aceites**, v. 64, n. 5, p. 489–496, out. 2013.

GODFRAY, H. C. J.; AVEYARD, P.; GARNETT, T.; HALL, J. W.; KEY, T. J.; LORIMER, J.; PIERREHUMBERT, R. T.; SCARBOROUGH, P.; SPRINGMANN, M.; JEBB, S. A. Meat consumption, health, and the environment. **Science**, v. 361, n. 6399, 2018.

HU, H.; LIU, H.; SHI, A.; LIU, L.; FAUCONNIER, M.L.; WANG, Q. The Effect of Microwave Pretreatment on Micronutrient Contents, Oxidative Stability and Flavor Quality of Peanut Oil. **Molecules**, v. 24, p. 62 – 73, 2019.

HOU, Y.; HE, W.; HU, S.; WU, G. Composition of polyamines and amino acids in plant-source foods for human consumption. **Amino Acids**, v. 51, p. 1153 – 1165, 2019.

- HRON, R. J.; KUK, M. S.; ABRAHAM, G.; WAN, P. J. Ethanol extraction of oil, gossypol and aflatoxin from cottonseed. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 71, n. 4, p. 417-421, 1994.
- JIANG, L.; HUA, D.; WANG, Z.; XU, S. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, n. 2–3, p. 233–238, 2010.
- JOHNSON, L. A.; LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 2, p. 229-242, 1983.
- KANEKO, T.; ISHII, K. Separation of peanut protein by precipitation with acetone and ethanol and characterization of the protein isolates. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkai-shi**, v. 27, n. 4, p. 199-204, 1980.
- LATIF, S.; PFANNSYIEL, J.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Amino acid composition, antinutrients and allergens in the peanut protein fraction obtained by an aqueous enzymatic process. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 213–217, 2013.
- LI, H.; YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Reduction of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2, in roasted peanuts by ultrasound assisted enzymatic treatment. **Food Chemistry**, v. 141, n. 2, p. 762-768, 2013.
- LI, Y.; FINE, F.; FABIANO-TIXIER, A.; ABERT-VIAN, M.; CARRE, P.; PAGES, X.; CHEMAT, F. Evaluation of alternative solvents for improvement of oil extraction from rapeseeds. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 242 – 251, 2014.
- LIU, J.; LI, P.; JIANG, Z.; YANG, R.; ZHANG, W. Characterisation of peanut protein concentrates from industrial aqueous extraction processing prepared by spray and freeze drying methods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 5, p. 1597–1608, 2019.
- LUI, M. C. Y. **Estudo do balanço de massa e do perfil de isoflavonas no processamento de isolado e concentrados proteicos de soja**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- MA, T.; ZHU, H.; WANG, J.; WANG, Q.; YU, L. L.; SUN, B. Influence of extraction and solubilizing treatments on the molecular structure and functional properties of peanut protein. **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 197–204, 2017.
- NAVARRO, S.L.B.; RODRIGUES, C.E.C. Macadamia Oil Extraction With Alcoholic Solvents: Yield and Composition of Macadamia Oil and Production of Protein Concentrates From Defatted Meal. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, p. 1800092-1800100, 2018.
- OLIVEIRA, C. M.; GARAVAZO, B. R.; RODRIGUES, C. E. C. Liquid-liquid equilibria for systems composed of rice bran oil and alcohol-rich solvents: Application to extraction and deacidification of oil. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 418-427, 2012.
- OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, V.; ARACAVALA, K. K.; RODRIGUES, C. E. C. Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with

ethanol - A response surface approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 1, p. 22–31, 2012.

OKIYAMA, D. C. G.; SOARES, I. D.; TODA, T. A.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. C. Effect of the temperature on the kinetics of cocoa bean shell fat extraction using pressurized ethanol and evaluation of the lipid fraction and defatted meal. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 96 – 103, 2019.

PIMENTEL, D.; PIMENTEL, M. Sustainability of meat-based and plant-based diets and the environment. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, n. 3, p. 660–663, 2003.

RAMPAL, P. An analysis of protein consumption in India through plant and animal sources. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 39, n. 4, p. 564 – 580, 2018.

RAO, R.K.; KRISHNA, M. G.; ZAHEER, S. H.; ARNOLD, L. K. Alcoholic extraction of vegetable oils. Solubilities of cottonseed, peanut, sesame and soybean oils in aqueous ethanol. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 32, n. 7, 1955.

RAPINEL, V.; CLAUX, O.; ABERT-VIAN, M.; McALINDEN, C.; BARTIER, M.; PATOUILLARD, N.; JACQUES, L.; CHEMAT, F. 2-Methyloxolane (2-MeOx) as sustainable lipophilic solvent to substitute hexane for green extraction of natural products. Properties, applications and perspectives. **Molecules**, v. 25, p. 3417 – 3449, 2020.

RASTEGAR, H.; SHOEIBI, S.; YAZDANPANA, H.; AMIRAHMADI, M.; KHANEGHAH, A. M.; CAMPAGNOLLO, F. B.; SANT'ANA, A. S. Removal of aflatoxin B1 by roasting with lemon juice and/or citric acid in contaminated pistachio nuts. **Food Control**, v. 71, p. 279–284, 2017.

RINA, D.; BAHRI, S.; ZULNAZRI Z. Ekstraksi Minyak Kacang Tanah (peanut oil) Dengan Pelarut Etanol dan n-Heksan. **Chemical Engineering Journal Storage**, v. 1, n. 1, p. 29-41, 2021.

RUSSIN, T. A.; BOYE, J. I.; ARCAND, Y.; RAJAMOHAMED, S. H. Alternative Techniques for Defatting Soy: A Practical Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 200-223, 2011.

SAMPAIO NETO, O.Z.; BATISTA, E.A.C.; MEIRELLES, A.J. DE A. The Employment of Ethanol as Solvent to Extract Brazil Nut Oil. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 866–875, 2018.

SANDERS, T. H.; MCMICHAEL, R. W.; HENDRIX, K. W. Occurrence of Resveratrol in Edible Peanuts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1243 – 1246, 2000.

SEGATTO, L. M.; STAHL, A. M.; ZANOTTI, K.; ZUIN, V. G. Green and sustainable extraction of proteins from agro-industrial waste: an overview and a closer look to Latin America. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 37, p. 100661 – 100668, 2022.

SEIFERT, L. E.; DAVIS, J. P.; DORNER, J. W.; JAYNES, W. F.; ZARTMAN, R. E.; SANDERS, T. H. Value-added processing of peanut meal: Aflatoxin sequestration during

protein extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 5625–5632, 2010.

SESSA, D. J.; NELSEN, T. C.; SNYDER, J. M. Effect of salts on soy storage proteins defatted with supercritical CO₂ and alcohols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, p. 911 – 916, 1998.

SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New Jersey: John Wiley and Sons, 6th ed., v. 5, 2005.

SICAIRE, A. G.; VIAN, M.; FINE, F.; JOFFRE, F.; CARRÉ, P.; TOSTAIN, S.; CHEMAT, F. Alternative bio-based solvents for extraction of fat and oils: solubility prediction, global yield, extraction kinetics, chemical composition and cost of manufacturing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 8430 – 8453, 2015.

SOARES, I. D.; OKIYAMA, D. C. G.; RODRIGUES, C. E. C. Simultaneous green extraction of fat and bioactive compounds of cocoa shell and protein fraction functionalities evaluation. **Food Research International**, v. 137, 109622, 2020.

SURI, K.; SINGH, B.; KAUR, A.; SINGH, N. Impact of roasting and extraction methods on chemical properties, oxidative stability and Maillard reaction products of peanut oils. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 5, p. 2436–2445, 2019.

TATE, P. V.; CHAVAN, J. K.; PATIL, P. B.; KADAM, S. S. Processing of commercial peanut cake into food-grade meal and its utilization in preparation of cookies. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 40, p. 115–121, 1990.

TIR, R.; DUTTA, P. C.; BADJAH-HADJ-AHMED, A. Y. Effect of the extraction solvent polarity on the sesame seeds oil composition. **European Journal of Lipid Science and Technolgy**, v. 114, n. 12, p. 1427-1438, 2012.

TU, J.; WU, W. An advanced pilot method of separating peanut oils with high quality based on aqueous extraction. **Separation Science and Technology**, v. 55, n. 4, p. 739-751, 2020.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) – Foreign Agricultural Service. **Production, Supply and Distribution Online – Graphical Query: Stats By Commodity**. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/statsByCommodity>>. Acesso em: 18/06/2023.

_____. **Food and Nutrient Database for Dietary Studies – Ingredient Nutrient Values (2015-2016)**. Disponível em: < <https://www.ars.usda.gov/northeast-area/beltsville-md-bhnrc/beltsville-human-nutrition-research-center/food-surveys-research-group/docs/fndds-download-databases/>>. Acesso em: 19/06/2023.

van der GOOT, A. J.; PELGROM, P. J. M.; BERGHOUT, J. A. M.; GEERTS, M. E. J.; JANKOWIAK, L.; HARDT, N. A.; KEIJER, J.; SCHUTYSER, M. A. I.; NIKIFORIDIS, C. V.; BOOM, R. M. Concepts for further sustainable production of foods. **Journal of Food Engineering**, v. 168, p. 42 – 51, 2016.

WANG, H.; JOHNSON, L. A.; WANG, T. Preparation of soy protein concentrate and isolate from extruded-expelled soybean meals. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 81, n. 7, p. 713 – 717, 2004.

WU, H.; WANG, Q.; MA, T.; REN, J. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. **Food Research International**, v. 42, n. 3, p. 343–348, abr. 2009.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. **Food Chemistry**, v. 103, n. 1, p. 121–129, 2007.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I.; CHENG, H.; MALEKI, S. Enzymatic treatment of peanut kernels to reduce allergen levels. **Food Chemistry**, v. 127, n. 3, p. 1014-1022, 2011.

ZHANG, H.; WANG, M. L.; DANG, P.; JIANG, T.; ZHAO, S.; LAMB, M.; CHEN, C. Identification of potential QTLs and genes associated with seed composition traits in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using GWAS and RNA-Seq analysis. **Gene**, v. 769, 2021.

ZHAO, Q.; LI, P.; WANG, M.; ZHANG, W.; ZHAO, W.; YANG, R. Fate of phospholipids during aqueous extraction processing of peanut and effect of demulsification treatments on oil-phosphorus-content. **Food Chemistry**, v. 331, p. 1 – 9, 2020.

ZHUANG, X.; ZHANG, Z.; WANG, Y.; LI, Y. The effect of alternative solvents to n-hexane on the green extraction of *Litsea cubeba* kernel oils as new oil sources. **Industrial Crops and Products**, v. 126, p. 340 – 346, 2018.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral desta dissertação de mestrado foi avaliar a utilização do etanol absoluto na extração do óleo remanescente na torta de prensagem de grãos de amendoim e seu impacto nas condições do processo, assim como comparar as características dos produtos obtidos, óleo e sólido desengordurado, com produtos provenientes da extração com solvente tradicional. Posteriormente, obter e caracterizar, em termos de composição e propriedades funcionais, concentrados proteicos a partir do sólido desengordurado de amendoim por meio de extração com etanol absoluto e com hexano, utilizando precipitação isoelétrica e com etanol.

Para se atingir os objetivos propostos, as seguintes atividades foram realizadas:

- Avaliação da utilização do etanol na etapa de extração do óleo, delineamento das condições de processo necessárias para a utilização do solvente alcoólico (temperatura, número de estágios de contato, razão sólido:solvente) e comparação com hexano;
- Caracterização dos óleos obtidos por prensagem a frio e extração com os solventes etanol e hexano quanto a composição e parâmetros físico-químicos;
- Avaliação da aplicação do etanol na precipitação de proteínas, comparando com a técnica de precipitação isoelétrica;
- Avaliação das propriedades funcionais dos concentrados proteicos quanto ao teor de proteínas, solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade de formação de espuma e solubilidade da espuma, capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão, cor, temperatura e entalpia de desnaturação.

Capítulo I

Comparação experimental entre etanol e hexano como solventes para extração de óleo de torta prensada de amendoim

Trabalho publicado na revista *Foods*

v. 12, n. 15, 2886, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12152886>

I. RESUMO

Etanol (Et) tem sido sugerido como substituto do hexano (Hx) para extração de óleos de diferentes matrizes oleaginosas. Neste trabalho, Et e Hx foram utilizados para extração do óleo residual presente na torta de prensagem de grãos de amendoim (PPC), sendo avaliadas variáveis tais como temperatura, razão sólido/solvente e número de estágios de contato na extração sequencial em correntes cruzadas e o efeito destas variáveis nos óleos (POEt e POHx) e sólidos desengordurados (DSEt e DSHx). Hx possibilitou rendimento de extração de $86 \pm 2\%$, em 2 estágios, a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ e razão mássica sólido/solvente de 1/4. Na extração com Et, para se atingir rendimento de $87 \pm 4\%$, foi necessária a utilização de temperatura mais elevada ($75\text{ }^{\circ}\text{C}$), maior quantidade de solvente (sólido/solvente de 1/5) e 3 estágios de contato. POEt e POHx apresentaram composição em termos de ácidos graxos e triacilgliceróis e propriedades físicas semelhantes ao óleo extraído por prensagem a frio (CPPO). POEt apresentou maior acidez livre ($1,47 \pm 0,03\%$) e tonalidade verde/amarelo mais intensa que POHx e CPPO ($0,82 \pm 0,04$ e $0,43 \pm 0,02\%$ de acidez livre, em massa, respectivamente), indicando que as etapas de desacidificação e branqueamento no refino devem ser oneradas. DSEt e DSHx apresentaram alto teor proteico ($> 45\%$ em massa) e alta solubilidade de nitrogênio (86 ± 6 e $98 \pm 1\%$, respectivamente), indicando que podem ser utilizados para obtenção de proteínas.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea* L.; extração sólido-líquido; solvente renovável; propriedades físicas; densidade; viscosidade; índice de solubilidade de nitrogênio; composição em ácidos graxos; composição em triacilgliceróis.

I. ABREVIACÕES E SIGLAS

IV = índice de iodo; VOC = compostos orgânicos voláteis; PPC = torta de prensagem de amendoim; d_A = densidade aparente; d_T = densidade real; PC = fenólicos totais; FLA = flavanóis totais; CPPO = óleo de amendoim obtido por prensagem a frio; POEt = óleo de amendoim obtido por extração com solvente etanol; POHx = óleo de amendoim obtido por extração com solvente hexano; TAG = triacilglicerol; Et = etanol absoluto; Hx = hexano; DS = sólido desengordurado; DSEt = sólido desengordurado com etanol; DSHx = sólido desengordurado com hexano; RO = óleo residual; RI = índice de retenção;

NSI = índice de solubilidade de nitrogênio; FA = ácido graxo livre; GAE = equivalente de ácido gálico; CE = equivalente de catequina.

I. 1. INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é produzido mundialmente e amplamente consumido como grão torrado, manteiga de amendoim, óleo de amendoim, dentre outros (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016). A produção mundial de grãos, óleo e farelo em maio de 2023 foi de 50,4, 6,5 e 7,9 mil toneladas métricas (KMT), respectivamente, com destaque para os quatro principais produtores mundiais China, Índia, Nigéria e EUA, distribuídos nos continentes asiático, africano e americano. Esses países são responsáveis por 63,5% da produção mundial de grãos, 75,3% do óleo e 75,8% do farelo/torta (USDA, 2023).

O amendoim apresenta composição semelhante à das nozes, sendo considerado uma oleaginosa devido ao alto teor de lipídios (40 - 50%, em massa). O óleo apresenta composição balanceada em termos de ácidos graxos, uma vez que é composto majoritariamente por ácidos graxos mono e poliinsaturados. O perfil lipídico associado a compostos bioativos como resveratrol e fitoesteróis pode proporcionar benefícios à saúde humana, tais como atividade anti-inflamatória, redução do risco de câncer e de doenças cardiovasculares (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016).

Novos genótipos de amendoim foram desenvolvidos com características vantajosas, dentre elas o alto teor de ácido oleico e baixo índice de iodo (IV) (CARRÍN; CARRILLI, 2010; DAVIS et al., 2008), que varia entre 86 e 107 g iodo/100 g óleo. A porcentagem desse ácido graxo monoinsaturado em grãos regulares pode variar entre 41 e 67%, enquanto que em grãos alto oleico pode chegar a 80% (DAVIS et al., 2008). O óleo com alto teor de ácido oleico e, conseqüentemente menor IV, apresenta maior vida de prateleira devido à sua maior estabilidade oxidativa (PATTEE, 2005).

Devido ao alto conteúdo de lipídios do amendoim, seu óleo é tradicionalmente obtido por prensagem mecânica, sendo que o processo pode ser associado à extração com solventes visando a recuperação do óleo residual contido na torta de prensagem (AKHTAR et al., 2014). O solvente industrialmente utilizado para a extração de óleos vegetais, conhecido como hexano, é proveniente da destilação da nafta, fração mais leve do petróleo, e composto por uma mistura de isômeros do n-hexano.

Embora este solvente apresente vantagens como alta capacidade de dissolução do óleo e fácil recuperação para reutilização no processo, seu uso pode estar associado a

riscos ambientais e para a saúde humana. O n-hexano pode ser classificado como composto orgânico volátil (VOC) devido apresentar alta pressão de vapor e baixa solubilidade em água. A alta volatilidade do n-hexano pode levar a perdas deste componente para a atmosfera durante o processamento industrial de oleaginosas, contribuindo para a poluição ambiental (LI et al., 2014). Além disso, o isômero majoritário n-hexano e seus metabólitos têm sido associados a toxicidade crônica (neurotoxicidade, reprotoxicidade, entre outros). O n-hexano acomete não somente trabalhadores devido exposição ocupacional, mas a população em geral, devido ingestão deste como resíduo em alimentos (CRAVOTTO et al., 2022).

Diversas substâncias têm sido avaliadas como solventes alternativos ao hexano, dentre elas, o etanol. Este solvente merece destaque devido à menor toxicidade quando comparado ao hexano e possibilidade de ser obtido a partir de fontes renováveis (DE JESUS; FILHO, 2020). Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA) (FDA, 2017), o etanol é classificado quanto a toxicidade como Classe 3, ou seja, menos tóxico que o hexano que é classificado como Classe 2. Nos EUA, maior produtor mundial, o etanol é obtido a partir do milho, enquanto que no Brasil, segundo maior produtor mundial, a produção de etanol é principalmente a partir da cana de açúcar. Juntos, EUA e Brasil foram responsáveis em 2021 por 82% dos 27,3 bilhões de galões de etanol produzidos no mundo (DOE, 2023).

O etanol tem sido proposto para extração de óleo de oleaginosas com moderado teor de lipídeos, tais como soja (POTRICH et al., 2020) e farelo de arroz (JAVED et al., 2015), por exemplo, e também para extração de óleo remanescente em tortas de prensagem de castanha do Brasil (SAMPAIO NETO; BATISTA; MEIRELLES, 2018), amêndoas de babaçu (SAMPAIO NETO et al., 2020) e baru (ARACAVA et al., 2022), sementes de girassol (SCHARLACK; ARACAVA; RODRIGUES, 2017), nozes de macadâmia (NAVARRO; RODRIGUES, 2018). Tortas de prensagem de sementes de girassol e abóbora foram submetidas a extração do óleo residual utilizando etanol e hexano como solventes (CARABALLO; ROHM; STRUCK, 2023). Os autores observaram maior quantidade de óleo residual nos sólidos obtidos da extração com etanol, além de maior extração de pigmentos com o uso do solvente renovável. Estudos sobre extração de óleo residual de tortas de prensagem de nozes de macadâmia (NAVARRO; RODRIGUES, 2018) e amêndoas de baru (ARACAVA et al., 2022) mostram que o rendimento de extração de óleo é dependente do número de estágios de contato na extração sequencial e da tempe-

ratura de extração. Os autores também avaliaram o efeito do solvente sobre as características do sólido desengordurado, sendo a solubilidade do nitrogênio presente na fração proteica diminuída com o aumento da temperatura na etapa de extração do óleo.

Em relação ao amendoim, Arnold e Choudhury (1962) e Desmarina *et al.* (2021) compararam o desempenho dos solventes hexano e etanol para a extração do óleo presente nos grãos sem prévia prensagem mecânica. De maneira geral, ambos os solventes foram efetivos na extração do óleo (DESMARINA; BAHRI; ZULNAZRI, 2021; GANDH *et al.*, 2005), sendo o etanol responsável por extração de maior quantidade de compostos não-lipídicos (ARNOLD; CHOUDHURY, 1962).

Estudos avaliando extração de óleo residual em torta de prensagem de grãos de amendoim são escassos. Fonseca e Regitano-d'Arce (1993) avaliaram a capacidade do etanol com diferentes níveis de hidratação (0, 4, 7 e 10% de água, em volume) em extrair aflatoxinas da torta de amendoim concomitantemente a extração de óleo. Os autores observaram que os solventes hidratados são efetivos para a remoção de aflatoxinas, no entanto, quanto maior o teor de água presente no etanol, menor a capacidade de extração de lipídeos. Tate *et al.* (1990) avaliaram o desempenho do hexano na extração do óleo residual na torta de amendoim com subsequente utilização de solução hidroalcoólica (80% de etanol) para remoção de pigmentos e gosto amargo. Os autores avaliaram a aplicação do sólido desengordurado com hexano como substituto parcial de farinha de trigo para a formulação de cookies, mostrando que o co-produto da extração do óleo pode ser utilizado no preparo de alimentos proporcionando aumento do teor proteico. De acordo com Pattee (2005) e Arya *et al.* (2016) o sólido residual obtido da extração de óleo de amendoim com solvente, notadamente hexano, é utilizado para alimentação animal, para preparo de sopas e produtos de panificação como pães cookies, tal como proposto por Tate *et al.* (1990).

Com base no exposto, mostra-se necessária a comparação entre hexano e etanol para extração de óleo residual de torta de prensagem de grãos de amendoim. Aspectos relacionados ao processo de extração tais como temperatura, razão sólido/solvente e configuração da extração em termos de número de estágios de contato são necessários para subsidiar a tomada de decisão em relação a substituição do solvente fóssil pelo solvente renovável. Além disso, os produtos da extração com os solventes, óleo e sólido desengordurado, devem ser caracterizados e comparados afim de prever operações subsequentes de refino do óleo e utilização para o sólido desengordurado.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar as condições do emprego do etanol na extração do óleo residual da torta de amendoim. Para isso, os parâmetros físico-químicos do óleo obtido com etanol foram comparados com os dos óleos provenientes da prensagem mecânica e da extração com hexano. Os óleos foram extensamente caracterizados em termos de composição em ácidos graxos e triacilgliceróis, acidez livre, densidade, viscosidade, tensão superficial e cor. Os sólidos desengordurados por ambos os solventes também foram avaliados com a finalidade de verificar o impacto do uso de etanol no teor de proteínas e índice de solubilidade de nitrogênio da fração proteica.

I. 2. MATERIAIS E MÉTODOS

I. 2.1. Materiais

A torta e o óleo originados da prensagem a frio do amendoim cru foram adquiridos da empresa Sr. Ouro Verde (Almirante Tamandaré, PR, Brasil). Os reagentes utilizados nos experimentos e análises foram n-hexano (CAS 110-54-3), etanol absoluto (CAS 64-17-5), ácido acético glacial (CAS 64-19-7), carbonato de sódio anidro (CAS 497-19-8), ácido clorídrico (CAS 7647-01-0) e hidróxido de sódio (CAS 1310-73-2), adquiridos da Synth (Brasil). Padrões de glicose (CAS 50-99-7), ácido gálico (CAS 149-91-7), (+) – Catequina (CAS 154-23-4) e tridecanoato de metila (CAS 1731-88-0), 4-(Dimetilamino) cina-maldeído (DMAC – CAS 6203-18-5) e solução Folin-Ciocalteu 2M foram adquiridos da Sigma–Aldrich (EUA). Acetona (CAS 67-64-1) foi adquirida da Êxodo Científica (Brasil). Todos os reagentes apresentaram pureza $\geq 98.0\%$ (informada pelos fornecedores).

I. 2.2. Métodos

I. 2.2.1. Caracterização da torta de amendoim (PPC)

A torta de amendoim (PPC, sigla do termo em inglês *peanut pressed cake*) foi caracterizada em termos de distribuição de tamanho das partículas utilizando sistema de peneiras (série Tyler, Wheeling, EUA), sendo possível o cálculo do diâmetro médio das partículas conforme metodologia ASAE (1995).

A porosidade (ϵ) do material foi calculada pela Equação I.1, sendo d_A a densidade aparente, determinada através da aferição da massa (g) de PPC que ocupa determinado

Capítulo I

volume (mL) utilizando vidraria previamente calibrada, e d_T a densidade real obtida por picnometria com gás hélio (Quantachrome Instruments, MVP-6DC, EUA).

$$\varepsilon (\%) = \left(1 - \frac{d_A}{d_T}\right) \times 100 \quad (\text{I.1})$$

A PPC foi analisada quanto a umidade (Ac 2-41, AOCS, 1998) em estufa de convecção forçada (Nova Orgânica, N035/3, Brasil) a 130 °C por 4 h. O teor de lipídios (Am 5-04, AOCS, 1998) do material seco foi determinado em sistema semiautomático de extração (Ankom, XT10, EUA) a 90 °C por 5 h utilizando n-hexano como solvente. O teor de nitrogênio total (Ba 4e-93, AOCS, 1998) foi analisado em determinador de nitrogênio por combustão (Leco, FP-528, EUA), utilizando o fator de 5,46 (AOCS, 2009) para a conversão do teor de nitrogênio total em proteínas.

As cinzas (900.02, AOAC, 2007) foram quantificadas por incineração em mufla (Marconi, MA385/3, Brasil). As fibras solúveis e insolúveis foram determinadas pelo método enzimático (AOAC, 2005) e o teor de carboidratos não fibrosos foi estimado por diferença. A presença de micotoxinas (B1, B2, G1, G2 e ocratoxina) foi investigada por LC – MS seguindo método proposto por Sulyok *et al.* (2007) com modificações de Franco *et al.* (2018).

A PPC também foi caracterizada em termos de compostos fenólicos totais (PC) e flavanóis totais (FLA). A extração do conteúdo de PC e FLA foi realizada conforme método descrito por Ortega *et al.* (2010). Os compostos foram extraídos com solução de acetona, água e ácido acético glacial (70/29,5/0,5, v/v/v) adicionando 5 mL de solução em 0,5 g de amostra sólida previamente desengordurada a frio com hexano (razão PPC/hexano de 1/3, considerando 3 estágios de contato).

As dispersões de PPC desengordurado em solução de acetona acidificada foram agitadas por 5 min, seguindo para banho ultrassônico (Unique, UltraCleaner 1400, Brasil) a 37 °C por 10 min. Uma sequência de agitação por 5 min e descanso de 25 min foi repetida três vezes. As amostras foram centrifugadas (Thermo, CR3i, EUA) a 3.000 x g por 5 min a 25 °C. O sobrenadante foi coletado e filtrado com filtro seringa de nylon Allcrom com abertura de 0,45 µm.

A determinação de PC foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu descrito por Singleton, Orthofer & Lamuela-Raventós (1999), adotando a curva de calibração de ácido gálico onde os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico / g PPC

(mg GAE / g PPC). Dessa forma, 0,5 mL dos extratos diluídos em água foram adicionados a 2,5 mL de solução Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%. Após 2 h na ausência de luz, as absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1650 PC, Japão) a 760 nm.

Para a determinação de FLA utilizou-se a metodologia 4-(Dimetilamino) cinamaldeído (DMAC), descrita por Okiyama *et al.* (2018). Para a curva de calibração fez-se uso do padrão de (+) - Catequina, onde os resultados foram expressos como mg equivalente de catequina / g PPC (mg CE / g PPC). Dessa forma, a reação ocorreu diretamente na cubeta de leitura adicionando 0,5 mL dos extratos diluídos em etanol e 2,5 mL de reagente DMAC. A absorvância foi medida ao longo do tempo de reação em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1650 PC, Japão) a 640 nm, até obtenção de valor máximo de absorvância.

I. 2.2.2. Caracterização do óleo de amendoim prensado a frio (CPPO)

O óleo de amendoim obtido por prensagem a frio (CPPO, sigla do termo em inglês *cold pressed peanut oil*) foi caracterizado em termos de composição em ácidos graxos pelo método de derivatização em ésteres metílicos (FAME) (Ce 2-66 e Ce 1-62, AOCS, 2009). A análise foi realizada em cromatógrafo gasoso (Shimadzu GC-2010, Japão) com injetor automático (Shimadzu AOC 20i, Japão) e detector de ionização de chama, conforme descrito por Sawada *et al.* (2014). Os ácidos graxos foram identificados através de comparação com padrões externos (Supelco, EUA). A quantificação foi baseada na comparação das razões de área de cada ácido graxo com a área do padrão interno (tridecanoato de metila, C13:0). Foram utilizados fatores de correção de resposta do detector de ionização de chama e a conversão de ésteres metílicos de ácidos graxos para ácidos graxos (SAWADA *et al.*, 2014).

A partir do perfil de ácidos graxos foi estimada a composição provável em triacilgliceróis (TAGs) através de procedimento estatístico sugerido por Antoniosi Filho *et al.* (1995), executado no software MATLAB (MathWorks Inc., EUA).

A acidez livre do óleo foi determinada por titulação (2201, IUPAC, 1979) com solução alcalina de NaOH 0,01M em uma bureta automática (Metrohm Dosimat 775, Suíça). A umidade foi quantificada por titulação Karl Fischer (Ca 2e-84, AOCS, 1998) utilizando um titulador KF Titrino (Metrohm 787 KF Titrino, Suíça). A cor do CPPO foi caracterizada em espectrofotômetro de refletância sem contato (HunterLab, Eros, Virgínia, EUA). Foram calculados o ângulo hue ($^{\circ}h$) (Equação I.2) e a mudança de cor total

(ΔE) (Equação I.3), conforme metodologias sugeridas por McGuire (1992) e Li *et al.* (2012), respectivamente. Os valores determinados para o CPPO foram utilizados como referência para cálculo do ΔE para óleos de amendoim obtidos via extração com solventes (seção I. 2.2.3).

$$\text{°h} = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{I.2})$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_{CPPO}^*)^2 + (b^* - b_{CPPO}^*)^2 + (a^* - a_{CPPO}^*)^2} \quad (\text{I.3})$$

Onde L^* é referente a luminosidade, a^* é referente a coordenada vermelho/verde e b^* é referente a coordenada amarelo/azul.

As propriedades físicas densidade, viscosidade dinâmica e cinemática foram determinadas em viscosímetro Stabinger (Anton Paar, SVM 3000, Áustria) na faixa de temperatura entre 20 e 70 °C. Índice de refração foi determinado a 25 °C em refratômetro digital portátil (Atago, PAL-RI, Brasil) e a tensão superficial foi medida em tensiômetro de força (Attension, Sigma 702, Finlândia) a 20, 50 e 70 °C.

I. 2.2.3. Extração de óleo da PPC com etanol e hexano

A PPC foi submetida à extração dos lipídios remanescentes da prensagem com solventes etanol absoluto (Et) e n-hexano (Hx) em extrator em batelada (500 mL) de aço inoxidável (Tecnal, TE-139-E4, Brasil), conforme descrito por Oliveira *et al.* (2012) e demonstrado na Figura I.1. Agitação constante de 180 rpm e tempo de extração de 1 h foram adotados para todos os experimentos, conforme descrito por Navarro e Rodrigues (2018). As condições de temperatura e razão mássica sólido para solvente (w/w) variaram conforme o tipo de solvente, etanol (Et) ou hexano (Hx).

Para o etanol, inicialmente foram realizados experimentos preliminares em único estágio nas temperaturas de 60, 75 e 90 °C, considerando razão mássica sólido/solvente de 1/5. O intuito foi avaliar qual temperatura proporcionaria maior rendimento de extração de óleo com menor impacto nas proteínas contidas nos DSs através da determinação do índice de solubilidade de nitrogênio, NSI (MORR *et al.*, 1985), seguindo a metodologia descrita na seção I.2.2.4.

Figura I.1. Extratores em batelada de aço inoxidável.

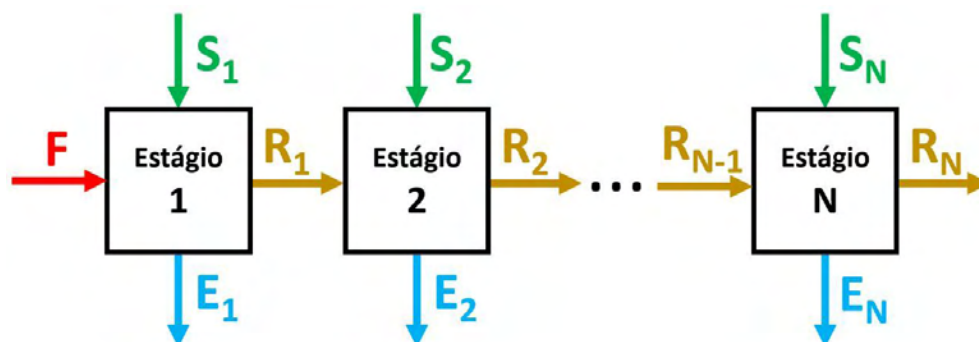


Fonte: própria autoria.

Com base nestes experimentos preliminares, foi selecionada a temperatura de 75 °C para os experimentos subsequentes de extração sequencial com Et em configuração de correntes cruzadas. Os experimentos em múltiplos estágios tiveram como objetivo a avaliação do número de estágios de contato entre sólido e solvente necessários para se atingir um determinado rendimento de extração de óleo. A Figura I.2 apresenta, de forma simplificada, um processo de extração sólido-líquido sequencial em configuração de correntes cruzadas. Neste tipo de operação e configuração, o primeiro estágio é alimentado pelas correntes F (torta de prensagem de amendoim) e S (solvente), originando as fases E (extrato) e R (sólido parcialmente desengordurado). Depois do primeiro estágio de contato entre PPC e solvente, o sólido parcialmente desengordurado (DS) proveniente do primeiro estágio se torna a alimentação do estágio subsequente, entrando em contato com solvente novo, conforme descrito por Toda *et al.* (2022). Nos experimentos de extração sequencial realizados com Et, foi adotada uma razão mássica sólido/solvente de 1/5, 5

estágios de contato, agitação constante de 180 rpm e tempo de extração de 1 h em cada estágio.

Figura I.2. Esquema de extração sequencial em configuração de correntes cruzadas.



Fonte: própria autoria.

Em relação ao solvente n-hexano (Hx), os experimentos de extração foram realizados a 55 °C, temperatura comumente empregada para extração industrial de óleos vegetais para este solvente (PRZYBYLSKI et al., 2005). Neste caso, na extração sequencial em correntes cruzadas, foram avaliados 2 estágios de contato de 1 h de duração, agitação constante de 180 rpm e razão mássica sólido/solvente de 1/4.

Para todos os experimentos de extração, os componentes do sistema, PPC ou DS e solvente, foram pesados em balança analítica de precisão (0,0001 g, Adam, PW-254, Milton Keynes, UK) respeitando a razão mássica sólido/solvente pré-estabelecida.

Os experimentos de extração foram realizados ao menos em duplicata. A partir de cada etapa de extração foram obtidas duas fases, fase líquida (extrato) e fase sólida (DS), as quais foram submetidas às caracterizações descritas na seção I.2.2.4.

I. 2.2.4. Caracterização do extrato e das fases sólidas desengorduradas

Após cada etapa de extração, a fase sólida (DS) foi pesada em balança semi-analítica (0,01 g, Adam, PGW-1502i, Milton Keynes, UK) para determinação da quantidade de solução aderida (retenção de líquido estático ou índice de retenção, RI, expresso em kg de solução aderida/kg de sólido inerte).

Amostras dos DSs obtidos em cada estágio, tanto para Et quanto para Hx, foram dessolventizadas em estufa de convecção forçada (Nova Orgânica, N035/3, Brasil) a 60 °C por 24 h e, na sequência, em estufa sob vácuo (Tecnal, TE395, Brasil) a 50 °C por 4

h e 21 kPa. Os teores de lipídios residuais (RO) e proteínas nos DSs foram determinados segundo os métodos oficiais (Am 5-04 e Ba 4e-93, respectivamente, AOCS, 1998) descritos na seção I.2.2.1. Com base no teor de lipídios na PPC e nos DSs, foi possível calcular o rendimento da extração de óleo (Y, em %) (Equação I.4):

$$Y (\%) = \frac{M^{PPC} \times (w_{oil}^{PPC}) - M^{DS} \times (w_{oil}^{DS})}{M^{PPC} \times (w_{oil}^{PPC})} \times 100 \quad (I.4)$$

Onde M^{PPC} corresponde a massa de matéria-prima, w_{oil}^{PPC} corresponde a fração mássica de óleo na matéria-prima, M^{DS} corresponde a massa de sólido desengordurado e w_{oil}^{DS} corresponde a fração mássica de óleo residual presente no sólido desengordurado proveniente de cada estágio.

O índice de solubilidade proteica dos DSs dessolventizados, expresso como índice de solubilidade de nitrogênio (NSI), foi determinado a 25 °C, utilizando água como solvente, em pH 9,0, segundo metodologia de Morr *et al.* (1985) (Equação I.5):

$$NSI (\%) = 100 \times \frac{N^{liquid\ phase} \times M^{water}}{N^{sample} \times M^{sample}} \quad (I.5)$$

Onde $N^{liquid\ phase}$ corresponde ao teor de nitrogênio na amostra filtrada (%); N^{sample} corresponde ao teor de nitrogênio na amostra sólida (%); M^{sample} representa a massa de amostra (g) e M^{water} representa a massa de água (g).

O teor de água dos extratos oriundos de cada um dos estágios de extração foi determinado por titulação Karl Fischer (Ca 2e-84, AOCS, 1998) utilizando um titulador KF Titrino (Metrohm 787 KF Titrino, Suíça).

Foi realizada caracterização adicional dos óleos extraídos com Et a 75 °C e Hx a 55 °C. Estes óleos foram denominados POEt e POHx, respectivamente. Dessa forma, para esta caracterização adicional, os extratos obtidos dos estágios sequenciais de extração com Et e dos estágios sequenciais com Hx foram agrupados e submetidos a dessolventização em rotaevaporador (Heidolph, modelo Hei-VAP Silver, Alemanha) a 50 °C e 7 kPa, seguido de secagem em estufa sob vácuo (Tecnal, TE395, Brasil) a 50 °C e 21 kPa durante 24 h para POHx e 48 h para POEt. Estes óleos foram caracterizados em termos

de composição em ácidos graxos, composição em triacilgliceróis, acidez livre, densidade, viscosidade, índice de refração e tensão superficial, conforme descrito no item I.2.2.2.

Os DSs provenientes da extração sequencial em correntes cruzadas com Et e com Hx, denominados DSEt e DSHx, respectivamente, foram submetidos a caracterização adicional em termos de umidade, lipídios, proteínas, cinzas, índice de solubilidade de nitrogênio e conteúdo de PC e FLA, como previamente descrito na seção I.2.2.1. Para possibilitar essas análises, o solvente residual contido nos respectivos DSs foi removido em estufa sob vácuo (Tecnal, TE395, Brasil) a 50 °C por 4 h e 21 kPa.

I. 2.2.5. Análise estatística

Os experimentos de extração foram realizados ao menos em duplicata, enquanto as caracterizações foram realizadas em triplicata ou quintuplicata. Os resultados foram avaliados quanto à significância ($p < 0.05$) usando o teste de comparações múltiplas de Duncan através do programa SAS® (versão 9.3, SAS Institute Inc., EUA) e Teste t através do software R 4.2.1 Core Team (The R Foundation, Austria, 2022).

I. 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

I. 3.1. Caracterização da torta de prensagem de amendoim (PPC)

A umidade da PPC foi de $4,4 \pm 0,1\%$ em massa. Sua composição química foi de $49,5 \pm 0,3\%$ de lipídios, $28 \pm 1\%$ de proteínas, $2,1 \pm 0,1\%$ de cinzas e $20 \pm 1\%$ de carboidratos totais, estimados por diferença, dos quais $1,7 \pm 0,1\%$ de fibras solúveis e $3,9 \pm 0,3\%$ de fibras insolúveis (% mássica em base seca). Em geral, os dados de composição estão de acordo com a literatura (ARYA; SALVE; CHAUHAN, 2016; CAMPOS-MONDRAGÓN et al., 2009; JONNALA; DUNFORD; DASHIELL, 2005). A análise micotoxicológica não detectou presença de aflatoxinas e ocratoxina.

O diâmetro médio das partículas da PPC usada nos ensaios de extração foi de $1635 \pm 22 \mu\text{m}$. A Tabela I.1 apresenta a distribuição dos tamanhos de partículas, enquanto a Figura I.3 apresenta a aparência da torta prensada de grãos de amendoim (PPC).

Tabela I.1. Distribuição granulométrica da torta de prensagem de amendoim (PPC).

d_i (μm)	d_{i+1} (μm)	PPC (g)	Frequência (%)	Tamanho médio de partícula (μm)
2360	3350	2.2 ± 0.3	11 ± 1	1635 ± 22
2000	2360	2.8 ± 0.2	15 ± 1	
1680	2000	3.5 ± 0.1	18.5 ± 0.8	
1190	1680	8.8 ± 0.2	46 ± 1	
841	1190	1.8 ± 0.3	10 ± 2	
595	841	0.020 ± 0.001	0.105 ± 0.002	

Os valores são apresentados como médias \pm desvio padrão.

Fonte: própria autoria.

Figura I.3. Torta de prensagem de amendoim (PPC).



Fonte: própria autoria.

Para o cálculo da porosidade total (ϵ) da PPC foram utilizados dados de densidade aparente ($565 \pm 2 \text{ kg/m}^3$) e densidade real ($792 \pm 1 \text{ kg/m}^3$). Dessa forma, a porosidade do leito de partículas de PPC nas extrações foi de $28,7 \pm 0,1\%$.

O teor de PC determinado na PPC foi de $5,4 \pm 0,1 \text{ mg GAE/g PPC}$, enquanto o teor de FLA obtido foi de $2,9 \pm 0,1 \text{ mg CE/g PPC}$. Há uma escassez de dados na literatura para o teor de compostos minoritários em PPC. Attree *et al.* (2015) relataram teor de PC no tegumento entre 97,29 e 134,36 mg GAE/g amostra, enquanto para o cotilédone os autores relataram valores entre 0,88 e 1,85 mg GAE/g amostra. Em relação ao conteúdo de flavanóis totais, os autores reportaram valores entre 31,68 e 85,17 mg CE/g amostra

para o tegumento e valores entre 0,18 e 0,30 mg CE/g amostra para o cotilédone. Pode-se observar que os valores de PC e FLA determinados neste trabalho são intermediários aos reportados na literatura para cotilédone e tegumento, provavelmente devido a PPC utilizada apresentar cotilédone com resíduos de pele de amendoim.

I. 3.2. Extrações de óleo em lote de estágio único de PPC usando etanol como solvente

Conforme descrito na seção I.2.2.3, foram realizados experimentos preliminares de extração de óleo de PPC utilizando etanol como solvente com o objetivo de avaliar o efeito da temperatura sobre o rendimento de extração de óleo e NSI da fração proteica contida nos DSs. Os resultados obtidos nas temperaturas de 60, 75 e 90 °C nas extrações em único estágio com etanol são apresentados na Tabela I.2.

Tabela I.2. Rendimento de extração de óleo (Y, %), conteúdo de óleo residual (RO, %), teor de proteínas (% em massa) e índice de solubilidade de nitrogênio (NSI, %) dos sólidos desengordurados obtidos em extrações em único estágio com etanol em diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Y (%)	RO (% em massa)	Proteínas (% em massa)	NSI (%)
60	28 ± 1 ^C	28 ± 1 ^A	31 ± 1 ^C	91 ± 2 ^B
75	53 ± 3 ^B	20 ± 1 ^B	37 ± 1 ^B	97 ± 1 ^A
90	69 ± 2 ^A	14 ± 1 ^C	43 ± 2 ^A	83 ± 3 ^C

Os valores são apresentados como médias ± desvio padrão. As mesmas letras maiúsculas na mesma coluna indicam ausência de diferença significativa pelo teste de Duncan (p > 0,05).

Fonte: própria autoria

O aumento da temperatura proporcionou menor teor de lipídios residuais nos DSs e, conseqüentemente, maior rendimento de extração. Arnold e Choudhury (1962) avaliaram a extração de óleo de amendoim com etanol a 43 e 72 °C e com hexano a 43 °C. Os autores constataram que a miscibilidade completa do óleo em etanol absoluto foi alcançada somente na temperatura de 72 °C, corroborando o estudo de Rao *et al.* (1955), que relataram a temperatura de 70 °C como suficiente para completa solubilização do óleo neste solvente. O emprego de temperaturas mais elevadas na operação de extração só-

lido/líquido provoca diminuição da viscosidade do óleo contido na matriz oleaginosa enquanto aumenta sua solubilidade e difusão, proporcionando também o aumento do coeficiente da transferência de massa da etapa de lavagem (BESSA et al., 2017). As características do material sólido oleaginoso, como sua porosidade, a razão sólido/solvente e o número de estágios de contato também influenciam diretamente na eficiência do processo.

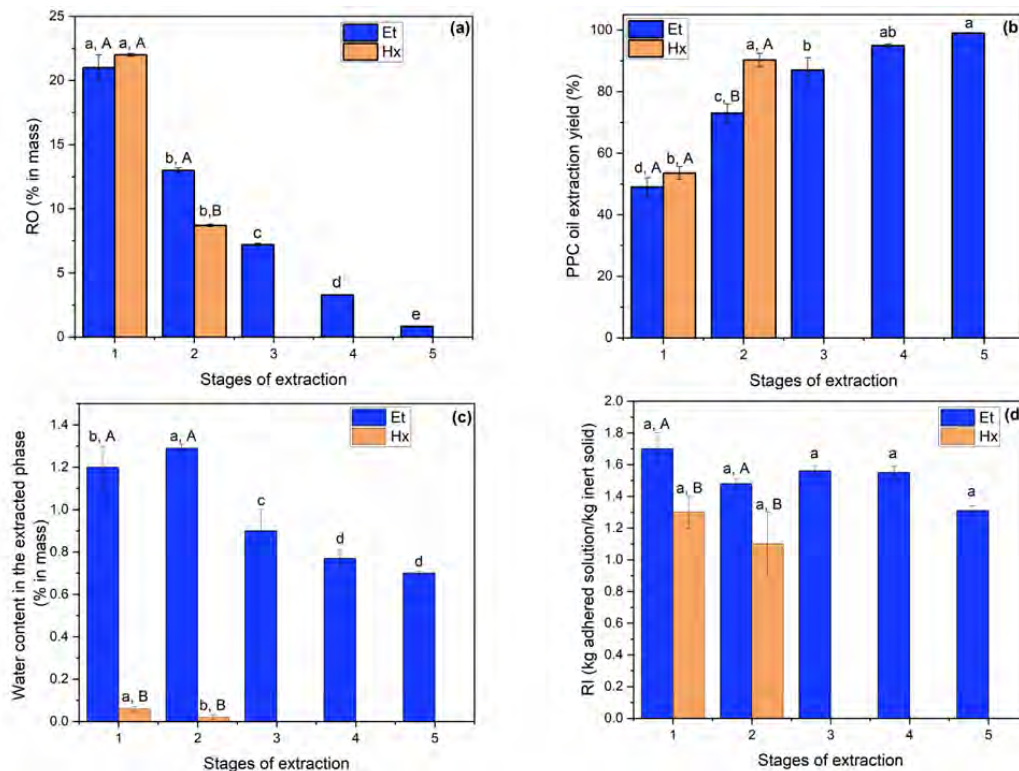
Na Tabela I.2 também é possível observar um aumento do teor de proteínas nos DSs em função do aumento da temperatura de extração, como consequência da extração de óleo. No intervalo de temperatura avaliado, observa-se valor máximo de NSI a 75 °C. O parâmetro indica a intensidade de desnaturação das proteínas durante o processo, ou seja, quanto menor o valor de NSI, mais afetada a fração proteica. Observa-se um aumento no NSI a 75 °C e uma diminuição do parâmetro a 90 °C, tal comportamento também foi observado por Navarro (2016) para as proteínas de macadâmia contida nos sólidos desengordurados. Segundo a autora, o tipo de proteína presente nos sólidos desengordurados pode influenciar no aumento do NSI a 75 °C. A desnaturação proteica pode ser provocada tanto pelo aumento da temperatura quanto pelo uso do etanol (NAVARRO; RODRIGUES, 2018). Os álcoois podem desestabilizar as proteínas causando um enfraquecimento das interações hidrofóbicas e, conseqüentemente, diminuindo sua solubilidade, influenciando em um processo subsequente de obtenção de concentrados/isolados proteicos a partir dos DSs.

O teor de proteínas e o NSI dos DSs foram monitorados uma vez que esse material pode ser utilizado como fonte para obtenção de concentrados ou isolados proteicos. Portanto, optou-se por extrair óleo remanescente da PPC com solvente alcoólico a 75 °C devido ao rendimento obtido e ao maior valor de NSI.

I. 3.3. Extrações de óleo sequencial de PPC usando etanol e hexano

Na Figura I.4 são ilustrados os resultados de extração do óleo presente na PPC utilizando Et e Hx como solventes.

Figura I.4. Extração de óleo de PPC com etanol e hexano em função do número de estágios sequenciais: (a) óleo residual (RO, % em massa) nos SDs; (b) rendimento acumulado de extração do óleo de PPC (Y, %); (c) teor de água nos extratos (% em massa); (d) índice de retenção (RI, kg solução aderida/kg sólido inerte).



Letras minúsculas iguais para o mesmo solvente não apresentam diferença significativa pelo teste de Duncan, letras maiúsculas iguais para o mesmo estágio de extração não apresentam diferença significativa pelo Teste t ($p > 0,05$).

Fonte: própria autoria.

A Figura I.4(a) apresenta os resultados de óleo residual (RO) na fase sólida em função do número de estágios avaliados para cada solvente, 5 estágios consecutivos para Et e 2 estágios para Hx. Observa-se que os valores de RO diminuem à medida que o número de estágios de contato entre sólido e solvente aumenta. Consequentemente, os rendimentos acumulados de extração de óleo aumentam em função do número de estágios avaliados para cada solvente (Figura I.4(b)). Observa-se que para o Hx, 2 estágios de extração foram suficientes para atingir rendimento de extração de $86 \pm 2\%$, obtendo-se um sólido desengordurado (DSHx) com $8,7 \pm 0,1\%$ de óleo residual. No caso do Et, para se atingir patamar estatisticamente igual de extração, foram necessários 3 estágios ($87 \pm 4\%$). Neste caso, para o DSEt, o valor de RO obtido foi de $7,2 \pm 0,1\%$.

Na Figura I.4(b) ainda é possível observar que a inserção do 4º e 5º estágios de extração com Et não possibilitaram aumento significativo do rendimento de extração em

relação ao 3º estágio ($p > 0,05$). Sendo assim, foi definido que 3 estágios de extração foram suficientes para o solvente Et.

A dissolução soluto-solvente implica, inicialmente, em perda de energia nas interações soluto-soluto e solvente-solvente e, posteriormente, ganho de energia nas interações soluto-solvente. Dessa forma, a solubilidade do soluto será alta se a interação solvente-soluto for mais forte do que a interação soluto-soluto, como acontece com o n-hexano (JOHNSON; LUSAS, 1983). Analisando-se os solventes Hx e Et em termos de suas constantes dielétricas (medida da polaridade), o Et apresenta constante dielétrica (D_i) de 18,13 na temperatura de 75 °C, enquanto o Hx apresenta o valor de 1,84 a 55 °C, valores calculados segundo Wohlfarth (2015) para as respectivas temperaturas utilizadas nas extrações sequenciais. Desta forma, o Et é mais polar que o Hx, sendo este um importante parâmetro na determinação da interação soluto-solvente. A característica mais apolar do Hx leva ao aumento da afinidade e solubilização dos triacilgliceróis por este solvente. Solutos apolares possuem menor solubilidade em solventes polares como Et, que pode ser compensada com o aumento da temperatura, emprego de maior quantidade de solvente e maior número de estágios no processo para esgotar o material em termos de lipídios (JOHNSON; LUSAS, 1983; NAVARRO; RODRIGUES, 2018).

Os parâmetros de solubilidade de Hansen (PSH) têm sido estudados como uma forma eficiente de caracterizar as interações soluto-solvente. Visioli (2023) utilizou os PSHs para estimar solubilidade do óleo de soja em diferentes solventes. Alvarenga *et al.* (2020) calcularam a solubilidade do óleo de fibra prensada de palma e do beta-caroteno em diferentes solventes, puros e misturas de álcoois e hidrocarbonetos. Os estudos indicaram maior solubilidade do óleo de soja e óleo de fibra prensada de palma em hexano, uma vez que através do cálculo da distância soluto-solvente, para o solvente tradicional a distância obtida é menor do que para o solvente renovável.

Segundo Johnson e Lusas (1983), solvente mais polar possui maior capacidade em extrair compostos com polaridade semelhante, como proteínas, carboidratos, pigmentos e água. A Figura I.4(c) apresenta os resultados de teor de água nos extratos obtidos a cada estágio de extração, demonstrando a maior capacidade do Et em desidratar a PPC em relação ao Hx, como citado por Cheryan *et al.* (2012).

Na Figura I.4(d) são apresentados os valores de índice de retenção (RI). Segundo Araújo *et al.* (2018), o RI é diretamente afetado pela afinidade da fase líquida pelo sólido e inversamente proporcional a velocidade com que o líquido percola o leito sólido. O parâmetro apresenta relevância para projetos de extratores devido à influência do número

de estágios de contato necessários para esgotar os lipídios da matriz sólida. Também influencia na quantidade de calor necessária para a dessolventização do DS obtido do processo de extração (ARAÚJO et al., 2018).

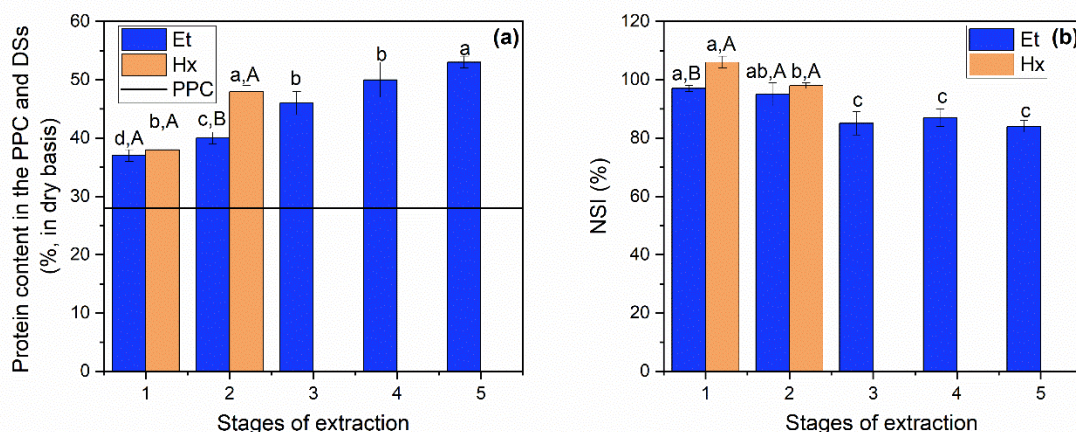
Ao longo dos estágios da extração sequencial os valores de RI para Et e para Hx não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Em contrapartida, os valores de RI para Hx foram menores do que para o Et ($p < 0,05$), corroborando os dados de Araújo *et al.* (2018). Isso possivelmente se deve ao fato de que, devido à sua polaridade, o Et interage mais com a superfície do sólido que possui componentes polares tais como carboidratos e proteínas (ARAÚJO et al., 2018).

Outro fator que influencia os valores de RI é a submissão ou não da matéria-prima oleaginosa a pré-tratamentos para obtenção de pellets, collets ou lâminas. Navarro e Rodrigues (2018) avaliaram o efeito do etanol absoluto na extração de óleo de torta de prensagem de amêndoas de macadâmia sem submissão a pré-tratamento. As autoras obtiveram valor de RI a 75 °C de aproximadamente 2,75 kg de solução aderida/kg de sólidos inertes. Rittner (1992) comparou o efeito de diferentes pré-tratamentos da soja (expansão e laminação) na extração de óleo. O autor obteve RI de 0,40 kg de solução aderida/kg de sólidos inertes para soja em pellets submetida à extração de óleo com Hx e 0,43 kg de solução aderida/kg de sólidos inertes para soja em pellets submetida à extração de óleo com Et. Observa-se que os valores de RI para materiais pré-tratados são menores que para os materiais não submetidos a pré-tratamentos, como as tortas advindas de prensagem, independentemente do solvente utilizado na etapa de extração sólido/líquido.

Assim como discutido na seção I.3.2, o teor de proteínas e NSI dos DSs obtidos em cada estágio de extração foram avaliados com a finalidade de verificar o impacto dos estágios sequenciais e dos solventes na solubilidade proteica. Conforme demonstrado na Figura I.4(a), nota-se que enquanto o material se esgota em relação ao seu teor de lipídios (Figura I.5(a)), proporcionalmente o teor de proteínas aumenta. Em relação ao NSI dos sólidos advindos da extração com Et, os valores diminuem a partir do 2º estágio ($p < 0,05$) sendo estatisticamente iguais para o 3º, 4º e 5º estágios de extração. Para os sólidos obtidos com Hx há uma diminuição ($p < 0,05$) do NSI no 2º estágio (Figura I.5(b)) sendo este valor similar ao obtido com Et para o 2º estágio ($p > 0,05$). De maneira geral, as proteínas de amendoim contidas nos DSEt e DSHx foram pouco afetadas pelos solventes, número de estágios de contato e temperatura de extração, apresentando alto valor de NSI (maior que 80%). Este valor de NSI é maior que os reportados para proteínas contidas em DSs de amêndoas de baru com etanol a 60 °C (NSI de 35% em 3 estágios de extração de

óleo) (ARACAVA et al., 2022) e em DSs de amêndoas de macadâmia com etanol a 75 °C (NSI de 35% em 4 estágios de extração de óleo) (NAVARRO; RODRIGUES, 2018).

Figura I.5. Extração de óleo de PPC com etanol e hexano em função do número de estágios sequenciais: (a) teor de proteínas nos sólidos desengordurados (% mássica, base seca); (b) índice de solubilidade de nitrogênio (NSI, %) dos sólidos desengordurados.



Letras minúsculas iguais para o mesmo solvente não apresentam diferença significativa pelo teste de Duncan, letras maiúsculas iguais para o mesmo estágio de extração não apresentam diferença significativa pelo Teste t ($p > 0,05$).

Com base no exposto, em termos de rendimento de extração de óleo, observou-se que 2 estágios de extração para o Hx e 3 estágios de extração para o Et foram suficientes para atingir valores de rendimento de extração estatisticamente iguais. Para obter o mesmo rendimento de extração que o Hx, a extração com Et necessita de um estágio de contato adicional, com emprego de temperatura mais elevada e maior quantidade de solvente em relação ao sólido. Estas condições também possibilitaram a obtenção de DSs com teores similares de proteínas. Desta forma, com o objetivo de comparar os óleos extraídos com Hx e Et em relação ao óleo proveniente da prensagem mecânica dos grãos de amendoim, além de comparar os sólidos desengordurados obtidos da extração com os solventes, foram realizadas as caracterizações adicionais dos óleos e DSs apresentadas nas seções I.3.4 e I.3.5.

I. 3.4. Caracterização do óleo de amendoim

Foi realizada caracterização adicional dos óleos de torta de amendoim extraídos com Et a 75 °C em 3 estágios sequenciais e Hx a 55 °C em 2 estágios sequenciais. Estes óleos foram denominados POEt e POHx, respectivamente, e foram comparados ao óleo de amendoim obtido por prensagem a frio (CPPO).

O perfil em ácidos graxos e a composição provável em TAGs do CPPO, POEt e POHx são apresentados nas Tabelas I.3 e I.4, respectivamente. A composição em ácidos graxos para os óleos obtidos está coerente com os dados apresentados por Davis *et al.* (2008) e Dong *et al.* (2015), sendo característica de amendoim alto oleico. O enriquecimento no teor de ácido oleico pode ser feito através de técnicas de melhoramento genético, sendo o grão de amendoim considerado como alto oleico quando a relação entre os ácidos graxos oleico e linoleico (O/Li) apresenta valor ≥ 9 (DAVIS et al., 2013). Nos óleos obtidos, essa relação foi de 13 para CPPO, 16 para POEt e 15 para POHx.

O ácido oleico é monoinsaturado e menos suscetível a peroxidação quando comparado aos ácidos graxos poliinsaturados. Dessa forma, a alta proporção O/Li, juntamente com o baixo índice de iodo (IV), podem proporcionar maior estabilidade oxidativa ao óleo alto oleico (AKHTAR et al., 2014).

Segundo Pattee (2005), o IV pode variar entre 86 e 107 g iodo/ 100 g de óleo para amendoim regular. Segundo o autor, o óleo obtido a partir de amendoim alto oleico pode apresentar valores de IV entre 73 e 77 g iodo/ 100 g de óleo. Os valores obtidos são superiores ao reportado para amendoim alto oleico, porém, inferiores ao reportado para amendoim regular (Tabela I.3). Em linhas gerais, os óleos obtidos por extração com solvente apresentaram composição similar ao óleo obtido por prensagem ($p > 0,05$).

Tabela I.3. Composição em ácidos graxos (% em massa) do óleo de amendoim obtido por prensagem a frio (CPPO), extração com solvente etanol (POEt) e hexano (POHx).

Ácido graxo	Cx:y*	CPPO	POEt	POHx	Davis <i>et al.</i> (2008)	Dong <i>et al.</i> (2015)
Palmítico (P)	(C16:0)	5,5 ± 0,1 ^C	6,23 ± 0,01 ^A	5,9 ± 0,1 ^B	4,64 – 5,65	6,19 – 6,73
Estearico (S)	(C18:0)	2,1 ± 0,1 ^B	2,68 ± 0,03 ^A	2,7 ± 0,1 ^A	1,85 – 2,31	3,38 – 6,08
Oleico (O)	(C18:1)	79,5 ± 0,1 ^A	80,1 ± 0,5 ^A	79 ± 1 ^A	79,84 – 80,12	76,31 – 80,08
Linoleico (Li)	(C18:2)	6,1 ± 0,1 ^A	4,9 ± 0,4 ^A	5 ± 1 ^A	2,57 – 3,74	1,47 – 3,56
Linolênico (Le)	(C18:3)	nd	nd	0,1 ± 0,2	nd	0,42 – 0,69
Araquídico (A)	(C20:0)	1,01 ± 0,02 ^B	1,08 ± 0,04 ^{AB}	1,17 ± 0,01 ^A	1,12 – 1,37	1,51 – 2,23
Gadoleico (Ga)	(C20:1)	1,81 ± 0,01 ^A	1,69 ± 0,02 ^B	1,72 ± 0,01 ^B	1,93 – 2,56	0,99 – 1,44
Behêênico (Be)	(C22:0)	2,26 ± 0,01 ^B	2,08 ± 0,03 ^C	2,37 ± 0,01 ^A	2,99 – 3,34	2,55 – 3,37
Erúcico (E)	(C22:1)	0,1 ± 0,1	nd	nd	nd	nd
Lignocérico (Lg)	(C24:0)	1,53 ± 0,01 ^A	1,24 ± 0,05 ^B	1,52 ± 0,02 ^A	1,93 – 2,30	1,46 – 1,65
Massa molar média ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)		283,7 ± 0,1	283,2 ± 0,1	283,63 ± 0,03	-	-
Índice de iodo (IV) (g iodo/100 g óleo)		82,1	80,2	80,8	-	-
Ácidos graxos saturados (% em massa)		12,4	13,3	13,6	-	15,62 – 19,62
Ácidos graxos insaturados (% em massa)		87,6	86,7	86,4	-	80,38 – 84,38
Proporção entre ácidos graxos insaturados/saturados		7,0	6,5	6,4	-	4,1 - 5,4

*Cx:y, x = número de carbonos e y = número de duplas ligações. Nd = não detectado. Valores apresentados como média ± desvio. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não indicam diferença significativa pelo teste de Duncan ($p > 0,05$).

Quanto a composição provável em TAGs, os majoritários estimados neste trabalho são OOO, OOP e OLiO. Para Dong *et al.* (2015), os TAGs majoritários foram OOO e OOP. Os autores relataram um menor percentual de ácido linoleico (C18:2), podendo contribuir para menor quantidade de TAGs que possuem esse ácido graxo em sua composição.

De acordo com Akhtar *et al.* (2014), os grãos de amendoim altamente maduros podem conter um teor de acidez livre (AGL) de até 0,5%, sendo que este pode ser afetado por diversos fatores envolvidos no manejo e armazenamento da matéria-prima. Na Tabela I.4, pode-se observar que a acidez livre do CPPO apresentou valor inferior a 0,5%. Por outro lado, o uso de temperaturas mais elevadas na etapa de extração com solventes, juntamente com a presença de água, pode favorecer a hidrólise dos TAGs contribuindo para o aumento do teor de ácidos graxos livres, como observado para os óleos POEt e POHx.

Além desses fatores, o uso de solventes alcoólicos também favorece a obtenção de óleo com maior acidez livre. Devido à diferença de polaridade dos solventes, o Et possui maior capacidade de extrair compostos polares, dentre eles ácidos graxos livres (LI *et al.*, 2014). Este solvente também pode favorecer a alcoólise, que corresponde a troca do grupo acil entre os acilgliceróis e o etanol proporcionando aumento da quantidade de acidez livre (ZHANG; RHEE; KOSEOGLU, 2002). A maior quantidade de solvente e maior números de estágios de contato também pode ter contribuído para o maior valor de FFA no POEt em comparação ao POHx.

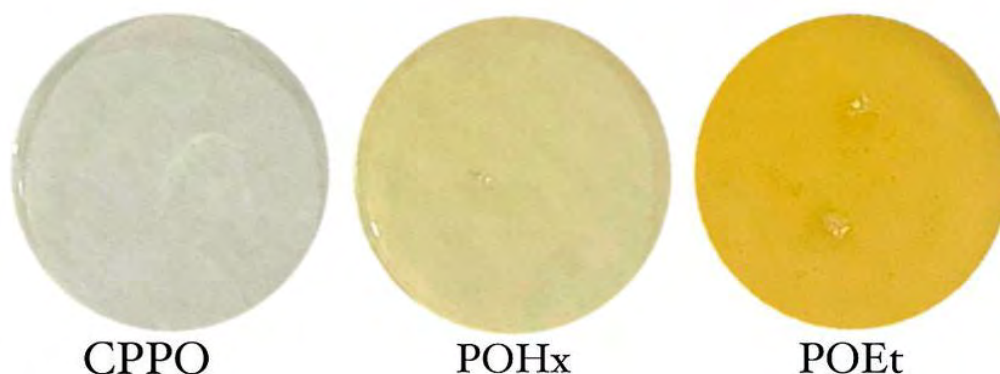
O tipo de extração afetou a luminosidade e a cor dos óleos obtidos (Tabela I.4). O uso de solventes proporcionou diferenças na tonalidade dos óleos, possivelmente devido à extração de clorofila e carotenoides, pigmentos comuns em óleos vegetais. A extração com solventes pode proporcionar lixiviação seletiva de alguns tipos de pigmentos, diferentemente da expressão do óleo por prensagem, na qual os pigmentos são expelidos da matriz sólida juntamente com os lipídios (CARRÍN; CARELLI, 2010). Além disso, produtos da reação de Maillard também podem contribuir para o escurecimento do óleo (SARAVANAN; BHOSLE; SUBRAMANIAN, 2006).

Tabela I.4. Composição provável em triacilgliceróis (% em massa) e índices de qualidade dos óleos de amendoim obtidos por prensagem a frio (CPPO), extração com solvente etanol (POEt) e hexano (POHx).

	Grupo ^a	Triacilglicerol ^b	CPPO	POEt	POHx	Dong <i>et al.</i> (2015)
Composição em TAG	50:1	POP	0,72 ^C	0,94 ^A	0,84 ^B	0,95 – 1,38
	52:1	POS	0,53 ^C	0,77 ^A	0,74 ^B	0,37 – 0,76
	52:2	OOP	12,18 ^C	14,01 ^A	13,07 ^B	9,26 – 10,30
	52:3	POLi	1,87 ^A	1,72 ^C	1,79 ^B	0,50 – 1,04
	54:2	OOS	4,86 ^C	6,17 ^A	6,11 ^B	5,97 – 10,52
	54:3	OOO	51,63 ^B	52,45 ^A	50,99 ^C	59,60 – 67,81
	54:4	OLiO	11,80 ^A	9,56 ^C	10,37 ^B	0,40 – 1,00
	54:5	LiLiO	0,91 ^A	0,59 ^C	0,90 ^B	0,03 – 0,29
	56:1	POBe	0,58 ^C	0,64 ^B	0,70 ^A	0,37 – 0,69
	56:2	OOA	2,21 ^C	2,38 ^B	2,53 ^A	3,43 – 4,80
	56:3	OOGa	3,59 ^A	3,35 ^C	3,40 ^B	0,95 – 1,40
	56:4	OLiGa	0,61	nd	nd	0,03 – 0,07
	58:1	POLg	0,52 ^C	0,54 ^B	0,62 ^A	0,23 – 0,26
	58:2	OOBe	4,26 ^B	3,97 ^C	4,46 ^A	4,18 – 7,17
	58:3	OLiBe	0,89 ^A	0,54 ^C	0,66 ^B	0,24 – 0,39
	60:2	OOLg	2,85 ^A	2,35 ^C	2,83 ^B	nd
Acidez livre (% em massa)			0,43 ± 0,02 ^C	1,47 ± 0,03 ^A	0,82 ± 0,04 ^B	
Índice de refração (25 °C)			1,47 ± 0,01 ^B	1,4671 ± 0,0002 ^A	1,4672 ± 0,0001 ^A	
Umidade (% em massa)			0,32 ± 0,02 ^A	0,02 ± 0,01 ^C	0,17 ± 0,01 ^B	
Características de cor		<i>L</i> *	91,54 ± 0,04 ^A	84 ± 3 ^B	89,4 ± 0,1 ^A	
		<i>a</i> *	-1,00 ± 0,03 ^A	-3,3 ± 0,2 ^B	-3,00 ± 0,01 ^B	
		<i>b</i> *	3,4 ± 0,2 ^C	41 ± 1 ^A	18,6 ± 0,1 ^B	
		ΔE *	nd	39 ± 1 ^A	15,6 ± 0,1 ^B	
		°hue	-81,49 ± 0,01 ^A	-85,5 ± 0,5 ^B	-80,76 ± 0,03 ^A	

^a x:y, x = número de carbonos (exceto carbonos do glicerol) e y = número de duplas ligações. ^b Grupos com composição total de triacilgliceróis inferior a 0,5% foram ignorados. Nd = não detectado. Valores apresentados como média ± desvio. Letras maiúsculas iguais na mesma linha não indicam diferença significativa pelo teste de Duncan ($p > 0,05$).

Figura I.6. Óleo de amendoim obtido por prensagem a frio (CPPO), extração por solvente com hexano (POHx) e etanol (POEt).



Fonte: própria autoria.

Os óleos obtidos das extrações com solvente apresentaram maiores valores para a coordenada vermelho/verde (a^*) e coordenada amarelo/azul (b^*), portanto apresentaram coloração mais intensa (Figura I.6). Pode-se inferir que essa intensificação da cor seja devida à maior extração de pigmentos. Maiores mudanças de coloração (aumento de ΔE) para POEt em relação ao POHx ($p < 0,05$) podem ter ocorrido devido à reação de escurecimento provocada pela maior temperatura de extração de óleo empregada para o Et. O emprego do Et proporcionou diminuição da luminosidade (L^*) e aumento de tonalidade amarela em relação ao POHx ($p < 0,05$). De forma geral, os óleos provenientes das extrações com solvente possivelmente deverão ser submetidos ao refino devido apresentarem cor mais intensa e maior teor de acidez livre. A extração com Et possivelmente onerará as etapas de branqueamento e desacidificação devido aos valores obtidos para cor e acidez livre serem maiores do que para o Hx.

Dados como índice de refração e densidade podem ser adotados para diferenciar de forma rápida os grãos contendo óleo de amendoim alto oleico e óleo regular. Davis *et al.* (2013) reportaram dados de índice de refração em óleos com relação O/Li variando entre 12 e 16. Os valores de índice de refração reportados pelos autores variaram entre 1,4686 e 1,4688, os quais estão de acordo com os valores reportados na Tabela I.4.

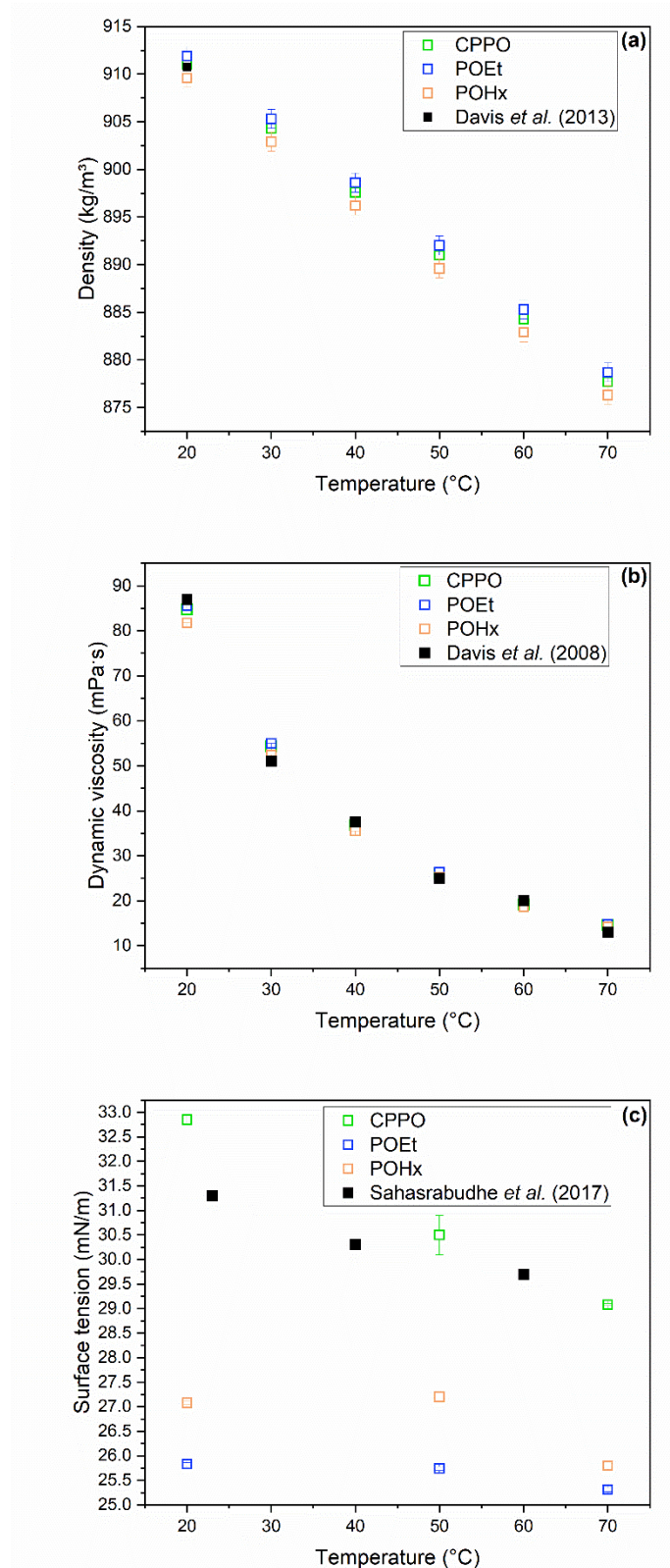
A Figura I.7 apresenta dados de propriedades físicas para CPPO, POEt e POHx. Na Figura I.7(a) pode-se observar os valores de densidade dos óleos obtidos por extração com solventes e por prensagem em função da temperatura, sendo que a densidade diminuiu linearmente com o aumento da temperatura ($R^2 \geq 0,999$), independentemente do

modo de obtenção do óleo. Os valores de densidade variaram de 911,9 a 876,3 kg/m³ na faixa de temperatura de 20 a 70 °C. Davis *et al.* (2013) reportaram densidade de 910,75 kg/m³ a 20 °C em óleo de amendoim com relação O/Li de 16 (Figura I.7(a)). Comparando o dado dos autores com os valores obtidos, nota-se que, apesar das diferenças entre as razões O/Li, os valores de densidade são semelhantes, independentemente do método de extração.

Na Figura I.7(b) é possível observar que a viscosidade dinâmica diminui exponencialmente com o aumento da temperatura. Comparando os dados de viscosidade determinados para CPPO, POEt e POHx com os apresentados por Davis *et al.* (2008), nota-se que, independentemente do método de extração, os valores são semelhantes aos reportados pelos autores.

A Figura I.7(c) mostra dados de tensão superficial para CPPO, POEt e POHx comparados aos dados reportados por Sahasrabudhe *et al.* (2017) determinados a 23, 40 e 60 °C para óleo de amendoim comercial. Os dados determinados para o CPPO estão coerentes com os dados da literatura, enquanto que os dados de tensão superficial para os óleos obtidos por extração com solvente apresentaram valores menores. Pode-se inferir que os menores valores de tensão superficial determinados para POEt e POHx em comparação com CPPO podem ser decorrentes da menor quantidade de água presente nestes óleos, os quais foram submetidos à secagem em estufa sob vácuo (Tabela I.4). É possível observar que quanto maior a umidade dos óleos, maior o valor da tensão superficial, ou seja, CPPO > POHx > POEt (Tabela I.4, Figura I.7(c)). Gandova *et al.* (2021) determinaram dados de tensão superficial para água na faixa de temperatura de 20 a 50 °C, sendo que estes variaram de 71 a 69 mN/m. Os autores observaram que a diminuição do teor de água em sistemas contendo extratos etanólicos de farelo de sementes de girassol pode contribuir para a diminuição da tensão superficial dos sistemas, o que corrobora as observações do presente trabalho.

Figura I.7. Propriedades físicas dos óleos de amendoim obtidos por prensagem a frio (CPPO), extração com solvente etanol (POEt) e hexano (POHx) em função da temperatura: (a) densidade (kg/m^3); (b) viscosidade dinâmica ($\text{mPa}\cdot\text{s}$); (c) tensão superficial (mN/m).



I. 3.5. Caracterização do sólido desengordurado de amendoim

Os DSs obtidos da extração sequencial com Et em 3 estágios a 75 °C (DSEt) e da extração com Hx em 2 estágios a 55 °C (DSHx) foram caracterizados em termos de composição centesimal. Os resultados são apresentados na Tabela I.5.

Tabela I.5. Composição centesimal dos sólidos desengordurados obtidos em extração sequencial com etanol em 3 estágios a 75 °C (DSEt) e com hexano em 2 estágios a 55 °C (DSHx).

Componente	DSEt	DSHx
Umidade ^a	4,9 ± 0,1 ^A	2,8 ± 0,1 ^B
Lipídios ^b	14,5 ± 0,2 ^A	9,9 ± 0,6 ^B
Proteínas ^{b,c}	45,2 ± 0,3 ^B	47,5 ± 0,4 ^A
Cinzas ^b	3,5 ± 0,1 ^A	3,7 ± 0,2 ^A
NSI ^a	86 ± 6 ^B	98 ± 1 ^A
PC ^d	5,8 ± 0,3 ^B	9 ± 1 ^A
FLA ^e	1,9 ± 0,1 ^B	2,7 ± 0,2 ^A

^a resultados expressos em %; ^b resultados expressos como % mássica em base seca; ^c teor de N x 5,46; ^d mg GAE/g amostra; ^e mg CE/g amostra.

Os valores são apresentados como médias ± desvio padrão. As mesmas letras maiúsculas na mesma coluna indicam ausência de diferença significativa pelo teste T ($p > 0,05$).

Fonte: própria autoria

Para avaliar se os conteúdos totais de PC e FLA foram afetados pelo tipo de solvente, os resultados foram considerados em base livre de lipídios, tanto para os DSs quanto para a PPC. Os teores de PC para PPC, DSEt e DSHx foram de $10,1 \pm 0,2$, $6,8 \pm 0,4$ e $9,9 \pm 0,8$ mg GAE/g amostra desengordurada, respectivamente, enquanto que os teores de FLA foram de $5,4 \pm 0,2$, $2,3 \pm 0,1$ e $3,1 \pm 0,2$ mg CE/g amostra desengordurada, respectivamente. É possível observar menores valores de PC e FLA para o DSEt quando comparado ao DSHx e PPC. Pode-se inferir que essa diminuição se deve ao fato de o Et ter capacidade de extração de compostos fenólicos, uma vez que esses compostos são facilmente solubilizados por solventes com maior polaridade (BODOIRA et al., 2022). Entretanto, os compostos também podem ter sofrido degradação devido a temperatura mais elevada utilizada na etapa de extração dos lipídeos com etanol. Segundo estudo realizado por Liyana-Pathirana e Shahidi (2005), o uso de temperaturas mais elevadas pode facilitar a mobilidade de compostos ativos, mas também pode promover a degradação desses compostos.

De maneira geral, ambos os solventes resultaram em sólidos com teor reduzido de óleo, enriquecidos em proteínas com elevados valores de NSI, possibilitando seu uso posterior para extração das proteínas.

I. 4. CONCLUSÕES

O etanol apresentou capacidade de extração similar ao hexano, no entanto, as condições de extração considerando a configuração múltiplos estágios em correntes cruzadas foram distintas. No caso do hexano, para obtenção de rendimento de extração de $86 \pm 2\%$, foram necessários 2 estágios sequenciais, a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ e razão mássica sólido/solvente de 1/4. Na extração com etanol, para se atingir o rendimento de $87 \pm 4\%$, foi necessária a utilização de temperatura mais elevada ($75\text{ }^{\circ}\text{C}$), maior quantidade de solvente (sólido/solvente de 1/5) e 3 estágios de contato.

Os sólidos desengordurados com etanol e hexano apresentaram alto teor proteico e alta solubilidade de nitrogênio, indicando que podem ser utilizados para obtenção de proteínas. Os óleos obtidos da extração com etanol e hexano apresentaram composição em termos de ácidos graxos e triacilgliceróis semelhantes ao óleo extraído por prensagem a frio. Os valores de densidade e viscosidade também foram similares variando de 876 a 912 kg/m^3 e de 14 a $86\text{ mPa}\cdot\text{s}$, respectivamente, na faixa de temperatura de 20 a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Por outro lado, os óleos obtidos das extrações com os solventes apresentaram menores valores de tensão superficial quando comparados ao óleo obtido da prensagem. De maneira geral, os óleos obtidos da extração com solventes apresentaram maior acidez e cor mais acentuada que o óleo extraído por prensagem a frio. O óleo obtido com etanol apresentou acidez livre 44% e 71% maior que a acidez presente no óleo obtido com hexano e prensagem, respectivamente. Em relação a coloração, a tonalidade verde/amarelo no óleo extraído com etanol foi mais intensa que nos óleos obtidos com hexano e por prensagem.

Com base nestes resultados pode-se inferir que o solvente renovável etanol pode substituir o hexano na extração de óleo residual presente na torta de prensagem de amendoim, agregando valor a esta cadeia de produção. Para possibilitar a correta transição da utilização do solvente fóssil para o renovável, mudanças na etapa de extração sólido-líquido e de refino do óleo devem ser consideradas.

I. 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, S.; KHALID, N.; AHMED, I.; SHAHZAD, A.; SULERIA, H.A.R. Physico-chemical Characteristics, Functional Properties, and Nutritional Benefits of Peanut Oil: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, p. 1562–1575, 2014.

ALVARENGA, G. L.; CUEVAS, M. S.; CAPELLINI, M. C.; CREVELLIN, E. J.; MORAES, L. A. B.; RODRIGUES, C. E. C. Extraction of carotenoid-rich palm pressed fiber oil using mixtures of hydrocarbons and short chain alcohols. *Food Research International*, v.128, p. 108810 – 108819, 2020.

ANTONIOSI FILHO, N.R.; MENDES, O.L.; LANÇAS, F.M. Computer Prediction of Triacylglycerol Composition of Vegetable Oils by HRGC. **Chromatographia**, p. 557–562, 1995.

AOAC. **Official Methods of Analysis**; 18th ed.; Washington, D. C, 2007.

AOAC. **Official Methods of of Analysis**; 18th ed.; Maryland, USA, 2005.

AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**; 3rd ed.; Champaign, 1998.

AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**; 6. Ed.; 2009.

ARACAVAL, K.K.; CAPELLINI, M.C.; GONÇALVES, D.; SOARES, I.D.; MARGOTO, C.M.; RODRIGUES, C.E.C. Valorization of the Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Processing Chain: Technological Properties of Defatted Nut Flour and Oil Solubility in Ethanol and Isopropanol. **Food Chemistry**, v. 383, p. 132587 – 132597, 2022.

ARAÚJO, A.C.M.A.; OLIVEIRA, E. R.; MENEZES, E.G.T.; DIAS, B.O.; TERRA, A.W.C.; QUEIROZ, F. Solvent Effect on the Extraction of Soluble Solids from Murici and Pequi Seeds. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 6, 2018.

ARNOLD, L. K.; CHOUDHURY, R. B. R. Hexane and Ethanol as Peanut Oil Solvents. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 39, p. 296-297, 1962.

ARYA, S.S.; SALVE, A.R.; CHAUHAN, S. Peanuts as Functional Food: A Review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 31–41, 2016.

ASAE. **Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Materials by Sieving**, S319.2; 1995.

ATTREE, R.; DU, B.; XU, B. Distribution of Phenolic Compounds in Seed Coat and Cotyledon, and Their Contribution to Antioxidant Capacities of Red and Black Seed Coat Peanuts (*Arachis hypogaea* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 448–456, 2015.

BESSA, L.C.B.A.; FERREIRA, M.C.; RODRIGUES, C.E.C.; BATISTA, E.A.C.; MEIRELLES, A.J.A. Simulation and Process Design of Continuous Countercurrent Ethanol Extraction of Rice Bran Oil. **Journal of Food Engineering**, v. 202, p. 99–113, 2017.

BODOIRA, R.; CECILIA CITTADINI, M.; VELEZ, A.; ROSSI, Y.; MONTENEGRO, M.; MARTÍNEZ, M.; MAESTRI, D. An Overview on Extraction, Composition, Bioactivity and Food Applications of Peanut Phenolics. **Food Chemistry**, v. 381, p. 132250 – 132261, 2022.

CAMPOS-MONDRAGÓN, M.G.; DE LA BARCA, A.M.C.; DURÁN-PRADO, A.; CAMPOS-REYES, L.C.; OLIART-ROS, R.M.; ORTEGA-GARCÍA, J.; MEDINA-JUÁREZ, L.A.; ANGULO, O. Nutritional Composition of New Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Cultivars. **Grasas y Aceites**, v. 60, p. 161–167, 2009.

CARABALLO, S. M.; ROHM, H.; STRUCK, S. Green Solvents for Deoiling Pumpkin and Sunflower Press Cakes: Impact on Composition and Technofunctional Properties. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 58, p. 1931–1939, 2023.

CARRÍN, M.E.; CARELLI, A.A. Peanut Oil: Compositional Data. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, p. 697–707, 2010.

CHERYAN, M.; SHANE, P.; ARANA, F. Germ Oil Extraction with Ethanol. E.E.U.U Invention Patent, n. US 20, 120, 141, 644, December 6th 2010, June 7 2012.

CRAVOTTO, C.; FABIANO-TIXIER, A.S.; CLAUX, O.; ABERT-VIAN, M.; TABASSO, S.; CRAVOTTO, G.; CHEMAT, F. Towards Substitution of Hexane as Extraction Solvent of Food Products and Ingredients with No Regrets. **Foods**, v. 11, p. 3412 – 3444, 2022.

DAVIS, J.P.; DEAN, L.O.; FAIRCLOTH, W.H.; SANDERS, T.H. Physical and Chemical Characterizations of Normal and High-Oleic Oils from Nine Commercial Cultivars of Peanut. **J. American Oil Chemists' Society**, v. 85, p. 235–243, 2008.

DAVIS, J.P.; SWEIGART, D.S.; PRICE, K.M.; DEAN, L.L.; SANDERS, T.H. Refractive Index and Density Measurements of Peanut Oil for Determining Oleic and Linoleic Acid Contents. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, p. 199–206, 2013.

DE JESUS, S.S.; FILHO, R.M. Recent Advances in Lipid Extraction Using Green Solvents. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 133, p. 110289-110323, 2020.

DONG, X.Y.; ZHONG, J.; WEI, F.; LV, X.; WU, L.; LEI, Y.; LIAO, B.S.; QUEK, S.Y.; CHEN, H. Triacylglycerol Composition Profiling and Comparison of High-Oleic and Normal Peanut Oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 92, p. 233–242, 2015.

FONSECA, H.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Aflatoxin removal of peanut meals with aqueous ethanol. **Scientia Agricola**, v. 50, n. 1, p. 154 – 156, 1993.

Food and Drug Administration (FDA). U.S. Dep. Heal. Hum. Serv. Food Drug Adm. Q3C-Tables and List Guidance for Industry 1. 2017. Disponível em: <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm073395.pdf>. (Acesso em: 26/05/2023).

FRANCO, L.T.; PETTA, T.; VENDRAMETTO, M.E.; OLIVEIRA, C.A.F. Performance and Application of a “Dilute-and-Shoot” LC-MS/MS Method for Determination of Mycotoxins in Food Products in São Paulo, Brazil. **International Journal of Food Engineering**, v. 4, n. 3, p. 206–211, 2018.

GANDH, A. P.; JOSHI, K.C.; KRISHNA, J.; PARIHAR, V. S.; SRIVASTAV, D. C.; RAGHUNADH, P.; KAWALKAR, J.; JAIN, S.K.; TRIPATHI, R. N. Studies on alternative solvents for the extraction of peanut oil. **Journal of Food Science and Technology Mysore**, v. 42, n. 4, p. 352-355, 2005.

GANDOVA, V.; IVANOVA, P.; KALAYDZHIEV, H.; PERIFANOVA-NEMSKA, M.; CHALOVA, V.I. Dissolution and Surface Tension Properties of Ethanol-Wash Solute Obtained from Industrial Sunflower Meal. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, p. 11284–11292, 2021.

IUPAC. **Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives** (Part 1, Sections I and II); 6th ed.; Oxford, 1979.

JAVED, F.; AHMAD, S.W.; REHMAN, A.; ZAFAR, S.; MALIK, S.R. Recovery of Rice Bran Oil Using Solid-Liquid Extraction Technique. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, p. 357–362, 2015.

JOHNSON, L.A.; LUSAS, E.W. Comparison of Alternative Solvents for Oils Extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, p. 229–242, 1983.

JONNALA, R.S.; DUNFORD, N.T.; DASHIELL, K.E. New High-Oleic Peanut Cultivars Grown in the Southwestern United States. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 82, p. 125–128, 2005.

LI, Y.; FINE, F.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M.; CARRE, P.; PAGES, X.; CHEMAT, F. Evaluation of alternative solvents for improvement of oil extraction from rapeseeds. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 242 – 251, 2014.

LI, H.; LONG, D.; PENG, J.; MING, J.; ZHAO, G. A Novel In-Situ Enhanced Blasting Extrusion Technique - Extrudate Analysis and Optimization of Processing Conditions with Okara. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 16, p. 80–88, 2012.

LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of Extraction of Phenolic Compounds from Wheat Using Response Surface Methodology. **Food Chemistry**, v. 93, p. 47–56, 2005.

MCGUIRE, R.G. Reporting of Objective Color Measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

MORR, C.V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J.E.; REGENSTEIN, J.M.; VAN BUREN, J.P.; KILARA, A.; MANGINO, M.E. A Collaborative Study to Develop a Standardized Food Protein Solubility Procedure. **Journal of Food Science**, v. 50, p. 1715–1718, 1985.

NAVARRO, S.L.B.; RODRIGUES, C.E.C. Macadamia Oil Extraction With Alcoholic Solvents: Yield and Composition of Macadamia Oil and Production of Protein Concentrates From Defatted Meal. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, p. 1800092-1800100, 2018.

NAVARRO, S. L. B. **Extração alcoólica de óleos de gérmen de milho e de torta de macadâmia e aproveitamento do material desengordurado na produção de concentrado proteico.** 2016, 195 p. Tese de Doutorado, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.

OKIYAMA, D.C.G.; SOARES, I.D.; CUEVAS, M.S.; CREVELIN, E.J.; MORAES, L.A.B.; MELO, M.P.; OLIVEIRA, A.L.; RODRIGUES, C.E.C. Pressurized Liquid Extraction of Flavanols and Alkaloids from Cocoa Bean Shell Using Ethanol as Solvent. **Food Research International**, v. 114, p. 20–29, 2018.

OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, V.; ARACAVA, K.K.; RODRIGUES, C.E.D.C. Effects of the Extraction Conditions on the Yield and Composition of Rice Bran Oil Extracted with Ethanol - A Response Surface Approach. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 22–31, 2012.

ORTEGA, N.; ROMERO, M.P.; MACIÀ, A.; REGUANT, J.; ANGLÈS, N.; MORELLÓ, J.R.; MOTILVA, M.J. Comparative Study of UPLC-MS/MS and HPLC-MS/MS to Determine Procyanidins and Alkaloids in Cocoa Samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 298–305, 2010.

PATTEE, H.E. Peanut Oil. *In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products*; Shahidi, F.; Vol. 2, p. 431–463, 2005.

POTRICH, E.; MIYOSHI, S.C.; MACHADO, P.F.S.; FURLAN, F.F.; RIBEIRO, M.P.A.; TARDIOLI, P.W.; GIORDANO, R.L.C.; CRUZ, A.J.G.; GIORDANO, R.C. Replacing Hexane by Ethanol for Soybean Oil Extraction: Modeling, Simulation, and Techno-Economic-Environmental Analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 244, p. 118660-118671, 2020.

PRZYBYLSKI, R.; MAG, T.; ESKIN, N.A.M.; MCDONALD, B.E. Canola Oil. *In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products*; Shahidi, F.; Vol. 2, p. 61–121, 2005.

RAO, R. K.; KRISHNA, M. G.; ZAHEER, S. H.; ARNOLD, L. K. Alcoholic Extraction of Vegetable Oils. I. Solubilities of Cottonseed, Peanut, Sesame and Soybean Oils in Aqueous Ethanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 32, p. 420-423, 1955.

RINA, D.; BAHRI, S.; ZULNAZRI Z. Ekstraksi Minyak Kacang Tanah (peanut oil) Dengan Pelarut Etanol dan n-Heksan. **Chemical Engineering Journal Storage**, v. 1, n. 1, p. 29-41, 2021.

RITTNER, H. Extraction of Vegetable Oils with Ethyl Alcohol. **Oleagineux**, v. 47, p. 39 – 42, 1992.

SAHASRABUDHE, S.N.; RODRIGUEZ-MARTINEZ, V.; O'MEARA, M.; FARKAS, B.E. Density, Viscosity, and Surface Tension of Five Vegetable Oils at Elevated Temperatures: Measurement and Modeling. **International Journal of Food Properties**, v. 20, p. 1965–1981, 2017.

SAMPAIO NETO, O.Z.; BATISTA, E.A.C.; MEIRELLES, A.J. DE A. The Employment of Ethanol as Solvent to Extract Brazil Nut Oil. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 866–875, 2018.

SAMPAIO NETO, O.Z.; GONÇALVES, D.; BERGARA, S. DE F.; BATISTA, E.A.C.; MEIRELLES, A.J. DE A. Oil Extraction from Semi-Defatted Babassu Bagasse with Ethanol: Liquid-Liquid Equilibrium and Solid-Liquid Extraction in a Single Stage. **Journal of Food Engineering**, v. 276, p. 109845-109852, 2020.

SARAVANAN, M.; BHOSLE, B.M.; SUBRAMANIAN, R. Processing Hexane-Oil Mixture Using a Nonporous Polymeric Composite Membrane. **Journal of Food Engineering**, v. 74, p. 529–535, 2006.

SAWADA, M.M.; VENÂNCIO, L.L.; TODA, T.A.; RODRIGUES, C.E.C. Effects of Different Alcoholic Extraction Conditions on Soybean Oil Yield, Fatty Acid Composition and Protein Solubility of Defatted Meal. **Food Research International**, v. 62, p. 662–670, 2014.

SCHARLACK, N.K.; ARACAVALA, K.K.; RODRIGUES, C.E.C. Effect of the Type and Level of Hydration of Alcoholic Solvents on the Simultaneous Extraction of Oil and Chlorogenic Acids from Sunflower Seed Press Cake. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, p. 4612–4620, 2017.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SULYOK, M.; KRŠKA, R.; SCHUHMACHER, R. A Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometric Multi-Mycotoxin Method for the Quantification of 87 Analytes and Its Application to Semi-Quantitative Screening of Moldy Food Samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, p. 1505–1523, 2007.

TATE, P. V.; CHAVAN, J. K.; PATIL, P. B.; KADAM, S. S. Processing of commercial peanut cake into food-grade meal and its utilization in preparation of cookies. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 40, p. 115–121, 1990.

TODA, T.A.; SANTANA, A.J.M.; FERREIRA, J.A.; DE JESUS AGNOLON PALLONE, E.M.; DE AGUIAR, C.L.; RODRIGUES, C.E. C. Evaluation of Techniques for Intensifying the Process of the Alcoholic Extraction of Coffee Ground Oil Using Ultrasound and a Pressurized Solvent. **Foods**, v. 11, p. 584-603, 2022.

U. S. Department of Energy (DOE). Alternative Fuels Data Center Maps and Data - Global Ethanol Production by Country or Region. Disponível em: <https://afdc.energy.gov/data/10331#:~:text=The%20United%20States%20is%20the,while%20Brazil%20primarily%20use%20sugarcane>. (Acesso em: 26/05/2023).

United States Department of Agriculture (USDA). Production, Supply and Distribution Online – Graphical Query: Stats By Commodity. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/statsByCommodity>. (Acesso em: 26/05/2023).

VISIOLI, P. C. F. **Solubilidade e propriedades físicas de misturas ternárias compostas por óleo de soja, etanol e álcoois superiores. 2023. 168 f.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

Capítulo I

WOHLFARTH, C. Permittivity (dielectric constant) of liquids. *In: CRC Handbook of Chemistry and Physics*; Haynes, W. M., 95th Ed., 2015.

ZHANG, F.; RHEE, K.C.; KOSEOGLU, S.S. Isopropyl Alcohol Extraction of Cottonseed Collets: Efficiency and Performance. **Journal of Food Lipids**, v. 9, p. 147–160, 2002.

CAPÍTULO II

Etanol como agente precipitante de proteínas de amendoim obtidas de sólidos desengordurados por diferentes solventes

II. RESUMO

Sólidos desengordurados obtidos do processamento de oleaginosas para extração de óleo apresentam alto teor de proteínas com potencial aplicação para obtenção de concentrado proteico. Neste trabalho, os sólidos desengordurados (DSs) obtidos das extrações do óleo remanescente da torta de amendoim com etanol e hexano (DSEt e DSHx) foram utilizados para obtenção de concentrados proteicos, sendo avaliadas variáveis como temperatura e pH na etapa de extração. Dentre as temperaturas (25, 50 e 75 °C) e pHs (6,0 e 9,0) avaliados, as extrações a 75 °C em pH 9,0 possibilitaram maior rendimento de extração, 89 ± 3 e 111 ± 4 %, respectivamente, para DSEt e DSHx. A precipitação isoelétrica (IP) permitiu obtenção de concentrados proteicos com teores de proteínas de 78 ± 3 e 73 ± 3 (% em base seca) para DSEt e DSHx, enquanto a precipitação alcoólica (AP) resultou em teor proteico de 79 ± 1 e 75 ± 1 , respectivamente. De forma geral, os concentrados obtidos em pH 9,0 apresentaram coloração avermelhada. O concentrado DSEt – AP apresentou alta solubilidade ($104 \pm 5\%$), capacidade de absorção de água e óleo (8 ± 1 e $1,2 \pm 0,1$ g água e óleo/g proteína, respectivamente), capacidade emulsificante e estabilidade de emulsão de 45 ± 4 e $43,8 \pm 0,5\%$, respectivamente. O emprego do Et na etapa de precipitação de proteínas possibilitou a obtenção de concentrados proteicos com boas propriedades funcionais, semelhantes aos concentrados obtidos pelo método comumente utilizado, de precipitação isoelétrica.

Palavras-chave: *Arachis hypogaea* L.; extração sólido-líquido; etanol; propriedades funcionais; índice de solubilidade de nitrogênio, desnaturação proteica.

II. ABREVIACÕES E SIGLAS

DS = sólido desengordurado; DSEt = sólido desengordurado com etanol; DSHx = sólido desengordurado com hexano; NSI = Índice de Solubilidade de Nitrogênio; PC = fenólicos totais; FLA = flavanóis totais; EAI = índice de atividade de emulsão; ESI = índice de estabilidade da emulsão; FAI = índice de capacidade formação de espuma; FSI = índice de estabilidade da espuma; WAC = capacidade de absorção de água; OAC = capacidade de absorção de óleo; DSC = calorimetria diferencial por varredura; DSEt – IP = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação isoelétrica; DSHx – IP = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação isoelétrica; DSEt – AP – N = concentrado proteico

obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação alcoólica com extrato neutralizado; DSHx – AP – N = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação alcoólica com extrato neutralizado; DSEt – AP – A = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação alcoólica com extrato alcalino; DSHx – AP – A = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação alcoólica com extrato alcalino; DSEt – APN – R = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com etanol por precipitação alcoólica seguida de rotaevaporação com extrato neutralizado; DSHx – APN – R = concentrado proteico obtido a partir do sólido desengordurado com hexano por precipitação alcoólica seguida de rotaevaporação com extrato neutralizado.

II. 1. INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e as mudanças climáticas têm contribuído com o aumento da demanda por proteínas. Em adição, fatores como pandemias e guerras podem impactar no custo e acesso das pessoas a esses produtos (SEGATTO et al., 2022). Pesquisas tem buscado atender essa demanda através da diversificação e inovação, proporcionando a obtenção de proteínas a partir de coprodutos da indústria alimentícia, gerando produtos de baixo custo e alto valor agregado (POJIC; MIŠAN; TIWARI, 2018; SEGATTO et al., 2022; ZHANG et al., 2022).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma cultivar produzida mundialmente com grande importância econômica, sendo China e Índia os maiores produtores dos grãos. A produção mundial do grão, de janeiro até maio/2023, foi estimada em 50,4 mil toneladas métricas (USDA, 2023). Considerado uma oleaginosa, o amendoim possui cerca 40 – 50% de lipídios em sua composição, que podem ser extraídos via prensagem mecânica associada a extração por solventes (AKHTAR et al., 2014).

O sólido desengordurado (DS), coproduto obtido a partir das extrações dos lipídios, apresenta baixo custo e alto teor proteico contendo cerca de 50% de proteínas em sua composição (HE et al., 2014). Entre janeiro e maio/2023, estima-se uma produção mundial de 7,9 mil toneladas métricas de DS de amendoim (DPS, sigla do termo em inglês para *defatted peanut solid*) (USDA, 2023).

Além do alto teor proteico, o DPS possui 20 aminoácidos em sua composição sendo uma fonte rica em arginina, que auxilia no fortalecimento do sistema imunológico, manutenção da pele, articulações e músculos (WU et al., 2009). Apesar do bom perfil

nutricional, o DPS muitas vezes é subutilizado como ração animal e fertilizantes (JAM-DAR et al., 2010), porém esse material poderia ser mais bem aproveitado como fonte para obtenção de concentrados proteicos.

Gayol *et al.* (2013) avaliaram vários parâmetros para a obtenção de proteínas de amendoim, como razão sólido/solvente, solventes de extração (água e solução de NaCl), pH e temperatura de extração. Os autores extraíram proteínas da torta desengordurada de amendoim obtida comercialmente, empregando lavagem com etanol 70% para remoção de carboidratos solúveis. Segundo os autores, as melhores condições para extração de proteínas de amendoim foram com água como solvente, razão sólido/solvente de 1/10, pH 9,0 a 40 °C e precipitação em pH 4,5.

Wu *et al.* (2009) obtiveram concentrados proteicos de amendoim a partir da farinha de amendoim comercial desengordurada com solvente composto por butano e propano. Os autores utilizaram diferentes métodos de extração (aquosa, alcalina e hidroalcolica) e precipitação avaliando as propriedades funcionais de concentrados proteicos. Neste estudo, os autores empregaram o etanol para a remoção de carboidratos solúveis. Eles relataram maior capacidade de absorção de água e óleo para os concentrados obtidos por precipitação isoelétrica seguida de re-suspensão dos precipitados em solução hidroalcolica (85 % de etanol, em massa).

As propriedades funcionais das proteínas como solubilidade, capacidade emulsificante, absorção de água e óleo, formação de espuma e gelificação influenciam diretamente na sua aplicação. Proteínas com alta capacidade de absorção de água e óleo são desejáveis para panificação, enquanto proteínas com alta capacidade emulsificante são desejáveis para confeitaria. Tais funcionalidades podem ser influenciadas diretamente pelas condições de extração e precipitação das proteínas e, também, pelas condições de obtenção do DS (YU; AHMEDNA; GOKTEPE, 2007).

Na extração de proteínas vegetais, adotam-se parâmetros que possibilitem maior solubilidade desses compostos. Para as proteínas de amendoim, baseado na curva de índice de solubilidade de nitrogênio (NSI), o pH de maior solubilidade proteica varia entre 8,0 e 12,0 (KANEKO; ISHII, 1980; WU et al., 2009). Posteriormente, a precipitação é feita comumente pela adequação do pH para o ponto isoelétrico, valores nos quais as proteínas apresentam menor solubilidade devido ao equilíbrio de cargas. A purificação das proteínas é uma importante etapa do processo, uma vez que outros compostos como carboidratos e lipídios também podem ser solubilizados (KANEKO; ISHII, 1980; WU et al., 2009).

Capítulo II

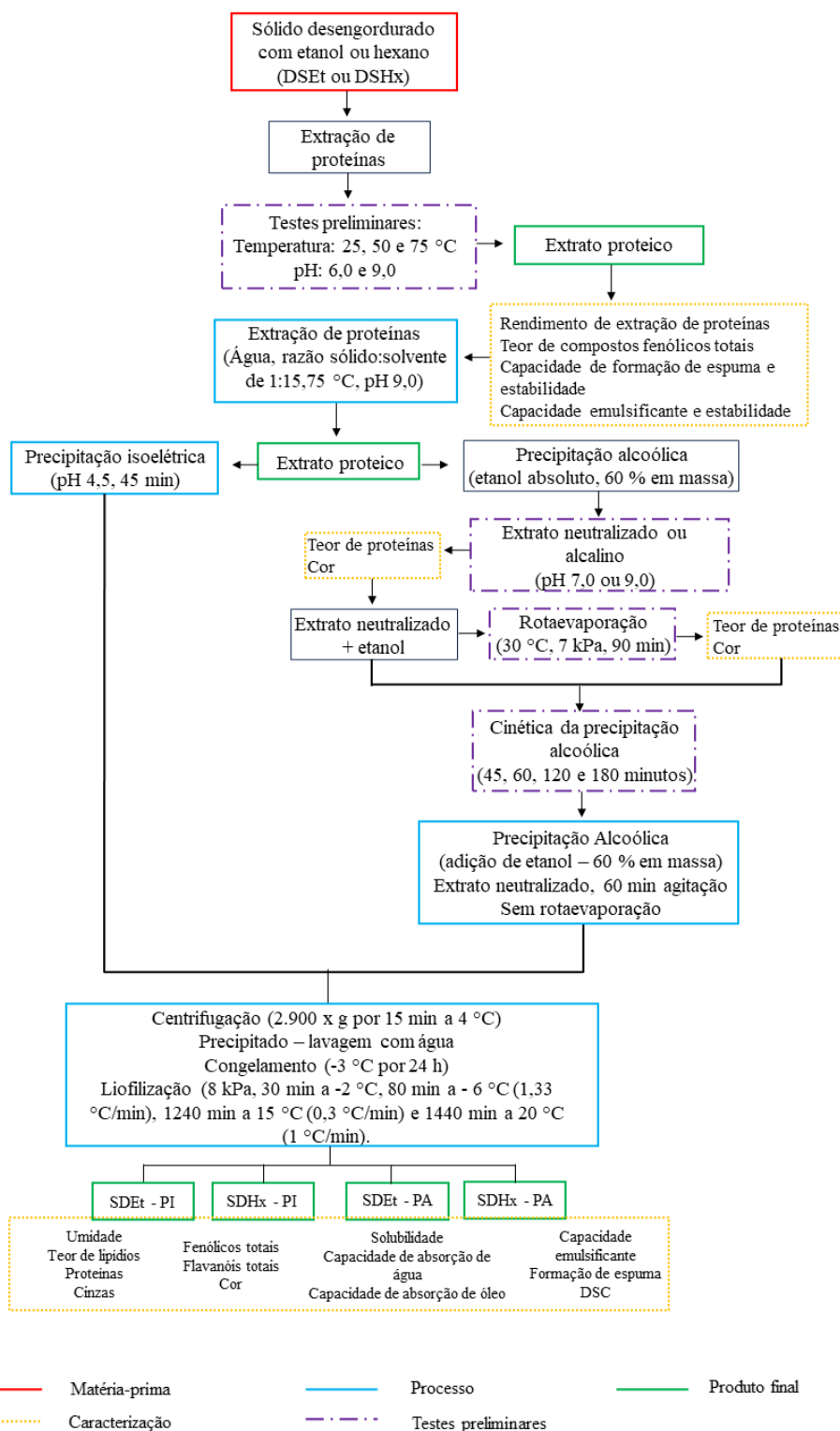
A precipitação proteica também é possível a partir da adição de materiais que sejam capazes de promover a diminuição da constante dielétrica do meio favorecendo a agregação das proteínas, sem a necessidade de ajuste de pH. Para isso, o agente precipitante deve ser miscível em água e não ser tóxico, como acetona e etanol (KANEKO; ISHII, 1980). O uso do etanol apresenta vantagens como baixo custo, principalmente em países com ampla produção, e possibilidade de recuperação (BOHÓRQUEZ, 2014).

Trabalhos que avaliem a aplicação do etanol nas etapas de extração de óleo remanescente na torta de amendoim prensada e, posteriormente, na precipitação de proteínas são escassos. Kaneko e Ishii (1980) avaliaram a extração de proteínas de amendoim seguida de precipitação proteica com uso de etanol 60%, a partir de farinha de amendoim desengordurada com éter. Os autores relataram obtenção de precipitação proteica de cerca de 90%.

A obtenção de concentrados proteicos a partir de coprodutos da indústria associado a utilização do etanol, que apresenta baixo custo e produzido em grandes volumes, pode proporcionar produtos baratos e com grande qualidade nutricional. Dessa forma, este trabalho buscou obter concentrados proteicos de amendoim a partir do sólido desengordurado com solvente tradicional e solvente renovável, por diferentes precipitações avaliando os impactos dos processos nas propriedades funcionais das proteínas.

A Figura II.1 apresenta um fluxograma das atividades desenvolvidas na execução desta dissertação com destaque para as atividades do Capítulo II.

Figura II.1. Fluxograma das atividades experimentais desenvolvidas para execução do Capítulo II.



Fonte: própria autoria.

II. 2. MATERIAIS E MÉTODOS

II. 2.1. Materiais

Os sólidos desengordurados (DSs), materiais de partida para extração de proteínas, foram obtidos a partir da extração do óleo residual da torta de prensagem em configuração contracorrente com solvente etanol absoluto (3 estágios consecutivos de 1 h, a 75 °C, agitação de 180 rpm) e hexano (2 estágios consecutivos de 1 h, a 55 °C, agitação de 180 rpm), conforme descrito no Capítulo I desta dissertação (item I.2.2.3). Os DSs obtidos foram denominados como sólido desengordurado com etanol (DSEt) e sólido desengordurado com hexano (DSHx) apresentando teor de óleo residual de $14,5 \pm 0,2$ e 10 ± 1 (% mássica em base seca), respectivamente.

Os reagentes utilizados nos experimentos e análises foram óleo de soja (Liza, Brasil), etanol absoluto (CAS 64-17-5), ácido acético glacial (CAS 64-19-7), carbonato de sódio anidro (CAS 497-19-8) e hidróxido de sódio (CAS 1310-73-2), adquiridos da Synth (Brasil). Padrões de ácido gálico (CAS 149-91-7) e (+) – Catequina (CAS 154-23-4), 4-(Dimetilamino) cinamaldeído (DMAC – CAS 6203-18-5), Dodecilsulfato de sódio (SDS) (CAS 151-21-3) e solução Folin-Ciocalteu 2M foram adquiridos da Sigma–Aldrich (EUA). Acetona (CAS 67-64-1) foi adquirida da Êxodo Científica (Brasil). Ácido clorídrico (CAS 7647-01-0) foi adquirido da Qhemis (Brasil). Todos os reagentes apresentaram pureza $\geq 98,0\%$ (informada pelos fornecedores).

II. 2.2. Métodos

II. 2.2.1. Extração de Proteínas

O DSEt e DSHx foram caracterizados quanto a umidade, teor de lipídios, proteínas, cinzas, índice de solubilidade de nitrogênio (NSI) e quanto ao conteúdo de fenólicos totais (PC) e flavanóis totais (FLA), conforme descrito no Capítulo I desta dissertação (item I.2.2.1).

A partir dos DSs, a extração de proteínas foi conduzida em células de vidro encaisadas (FGG, Brasil) conectadas a banho termostático digital (Marconi, MA184, Brasil) a 25, 50 e 75 °C, razão mássica DS/água de 1/15 em pH 6,0 e 9,0 (Digimed, DME-CV2, Brasil) com agitação de 400 rpm em agitador magnético (Heidolph, MR Hei-Tec, Alemanha), conforme método sugerido por Wu *et al.* (2009). Nos 40 minutos iniciais, período de condicionamento, o ajuste do pH foi realizado com adição de solução NaOH 2M.

Posteriormente, a mistura continuou em agitação por 60 minutos, período onde ocorreu a extração das proteínas.

O objetivo dos experimentos preliminares foi determinar qual valor de temperatura e pH proporcionariam maior extração das proteínas. Os valores de pH foram escolhidos uma vez que 6,0 é o valor de pH do material e o pH 9,0 é a faixa onde as proteínas de amendoim apresentam maior solubilidade (WU et al., 2009).

II. 2.2.2. Caracterização das fases extrato e refinado

Após o tempo de extração, obteve-se uma fase sólida residual (refinado) que foi decantada e fase líquida (extrato proteico) que é composta por água, proteínas extraídas e outros componentes do amendoim solúveis em água nas condições de extração, como carboidratos e lipídios.

Os refinados foram dessolventizados em estufa de convecção forçada (Nova Orgânica, N035/3, Brasil) a 100 °C por 24 h e caracterizados quanto ao teor de lipídio residual (Am 5-04, AOCS, 1998) em sistema semiautomático de extração (Ankom, XT10, EUA) a 90 °C por 1 h utilizando n-hexano como solvente. O teor de nitrogênio total (Ba 4e-93, AOCS, 1998) foi determinado por combustão (Leco, FP-528, EUA), utilizando o fator de 5,46 (AOCS, 2009) para a conversão do teor de nitrogênio total em proteínas. Para a determinação do conteúdo de PC e FLA dos refinados obtidos, foi utilizado metodologia descrita no Capítulo I desta dissertação (item I.2.2.1).

Os extratos proteicos foram centrifugados (Thermo, CR3i, EUA) a 2.900 x g por 15 minutos a 4 °C e posteriormente submetidos à filtração sob vácuo (Tecnal, TE0581, Brasil) sob pressão de 21 kPa. O nitrogênio total dos extratos proteicos filtrados foi determinado conforme descrito para o refinado. O rendimento de extração de proteínas (Y_p , em %) foi calculado com base no teor de nitrogênio presente nos extratos e nos DSs e suas respectivas massas, conforme Equação II.1.

$$Y_p (\%) = \frac{N^{extract} \times m^{extract}}{N^{DS} \times m^{DS}} \times 100 \quad (II.1)$$

Onde $N^{extract}$ corresponde ao teor de nitrogênio solubilizado no extrato, $m^{extract}$ corresponde a massa de solvente utilizada na extração, N^{DS} corresponde ao teor de nitrogênio

Capítulo II

presente no sólido desengordurado e m^{DS} corresponde a massa de sólido desengordurado utilizado na extração.

A determinação do conteúdo de PC nos extratos proteicos foi realizada segundo método Folin-Ciocalteu descrito por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999) adotando a curva de calibração de ácido gálico onde os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico / g de extrato (mg GAE / g extrato). Uma vez que o extrato proteico já se encontra na forma líquida, partiu-se diretamente para a diluição dos extratos em água na proporção 1:125 (m/m) para os extratos obtidos em pH 6,0 e na proporção 1:250 (m/m) para os extratos obtidos em pH 9,0. Dessa forma, 0,5 mL dos extratos diluídos foram adicionados a 2,5 mL de solução Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%. Após 2 h na ausência de luz, as absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1650 PC, Japão) a 760 nm.

O índice de atividade (EAI) e estabilidade da emulsão (ESI), assim como o índice da capacidade de formação (FAI) e estabilidade da espuma (FSI), foram determinados para os extratos obtidos a 50 e 75 °C devido ao maior teor de proteínas nestes extratos.

O EAI foi determinado segundo método turbidimétrico sugerido por Pearce e Kinsella (1978) padronizando os extratos para 0,1% de concentração proteica e, posteriormente, adicionando 1 mL de óleo de soja. A mistura foi agitada em Ultraturrax (IKA, T25, Alemanha) por 1 min. Uma alíquota de 200 µL da emulsão foi adicionada a 12,5 mL do SDS 0,1% e a absorvância (A^0) foi medida em espectrofotômetro (UV-1650PC, Shimadzu, Japão) a 500 nm. A cubeta de leitura permaneceu dentro do espectro para que a leitura fosse repetida após 10 min (A^{10}), a fim de determinar a estabilidade da emulsão (ESI). O EAI e ESI foram calculados pelas Equações II.2 e II.3, respectivamente.

$$EAI = \frac{2 \times 2,303 \times A^0 \times D}{C \times \emptyset \times 10000} \times 100 \quad (\text{II.2})$$

$$ESI (\%) = \frac{A^{10}}{A^0} \times 100 \quad (\text{II.3})$$

Onde A^0 corresponde a absorvância (nm) após o preparo das emulsões, A^{10} corresponde a absorvância (nm) após 10 minutos, D corresponde ao fator de diluição (62,5), C corresponde a massa de proteína por volume de solução proteica (g/mL) e \emptyset corresponde a fração volumétrica de óleo contida na emulsão.

O índice da capacidade de formação de espuma (FAI) foi determinado segundo Yadav, Yadav e Chaudhary (2011) através da diluição dos extratos proteicos em concentração de 1%, as amostras foram agitadas por 5 min em Ultra Turrax (IKA, T25, Alemanha). A altura (espuma + suspensão) foi medida antes (A^1 , em cm) e após a agitação (A^2 , em cm), sendo a CFE calculada pela Equação II.4:

$$FAI (\%) = \frac{A^2 - A^1}{A^1} \times 100 \quad (II.4)$$

A estabilidade da espuma (FSI) foi determinada segundo Privatti (2023) pela medida da espuma somada à suspensão após 10, 30, 45 e 60 min da sua formação.

A determinação da temperatura e pH de extração das proteínas, tanto para o DSEt quanto para o DSHx, foi baseada nos dados de rendimento de extração proteica em conjunto com as funcionalidades dos extratos. Dessa forma, optou-se por obter concentrados proteicos a 75 °C em pH 9,0.

II. 2.2.3. Precipitação de Proteínas

Os extratos proteicos obtidos a partir dos DSEt e DSHx em pH 9,0 a 75 °C, seguiram para a precipitação das proteínas, onde foram realizados diferentes tratamentos.

II. 2.2.3.1 Precipitação Isoelétrica

A precipitação isoeletrica (IP), comumente utilizada para a obtenção de proteínas, foi realizada segundo metodologia de L'Hocine, Boye e Arcand (2006). O extrato filtrado teve pH ajustado para 4,5, ponto isoeletrico, com solução de HCl 2M e mantido sob agitação constante a 400 rpm por 45 minutos em temperatura ambiente. O líquido foi centrifugado (Thermo, CR3i, EUA) a 2.900 x g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi descartado uma vez que é composto por carboidratos e outros compostos, enquanto que o precipitado, composto majoritariamente por proteínas, foi lavado com água e centrifugado a 2.900 x g por 10 min a 4 °C, sendo essa etapa repetida três vezes.

Após as lavagens, o precipitado foi disperso em água e neutralizado. Após congelamento a -3 °C por 24 h, as proteínas foram submetidas a secagem em liofilizador (Scientz-10ND, China) a 8 kPa, nas seguintes etapas: 30 min a -2 °C, 80 min a -6 °C (1,33 °C/min), 1240 min a 15 °C (0,3 °C/min) e acabamento 1440 min a 20 °C (1 °C/min).

Capítulo II

A proteína obtida por precipitação isoeétrica a partir do DSEt foi denominada de DSEt – IP, enquanto a proteína obtida a partir do DSHx foi denominada de DSHx – IP. Ambas foram mantidas em dessecador para posterior caracterização.

II. 2.2.3.2. Precipitação Alcoólica

Com a finalidade de determinar qual método proporcionaria maior teor de proteínas precipitadas, foram avaliados o efeito da neutralização antes e depois da adição de etanol absoluto para a precipitação alcoólica (AP). Para a neutralização antes da precipitação, o extrato filtrado teve o valor de pH ajustado para 7,0 com solução de HCl 2M e, em seguida adicionou-se etanol absoluto para que a solução atingisse 60% de etanol em massa, segundo Kaneko e Ishii (1980).

A solução foi agitada em agitador magnético a 400 rpm em temperatura de 25 °C por 45 minutos. Após o tempo de precipitação, as etapas de centrifugação, lavagem e liofilização foram realizadas conforme descrito no item II. 2.2.3.1. Nesse caso, as amostras foram denominadas como precipitação alcoólica com extrato neutralizado (DSEt – AP – N e DSHx – AP – N).

Para avaliar o efeito da neutralização depois da precipitação, o etanol absoluto foi adicionado ao extrato proteico sem alteração do pH. Após agitação de 45 minutos em temperatura ambiente a 400 rpm, o líquido foi centrifugado (Thermo, CR3i, EUA) a 2.900 x g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com água e centrifugado a 2.900 x g por 10 min a 4 °C, sendo essa etapa repetida três vezes. Após as lavagens, o precipitado foi coletado e teve seu pH neutralizado para 7,0. Após congelamento a -3 °C por 24 h, as proteínas foram submetidas a secagem em liofilizador conforme descrito no item II. 2.2.3.1. Nesse caso, as amostras foram denominadas como precipitação alcoólica com extrato alcalino (DSEt – AP – A e DSHx – AP – A).

Após os experimentos preliminares, determinou-se melhor condição de precipitação proteica com etanol com neutralização antes da adição de etanol. Sendo assim, optou-se por avaliar a influência da rotaevaporação no teor de proteínas obtido.

II. 2.2.3.3 Rotaevaporação

Devido a quantidade de etanol adicionada ao sistema, os extratos contendo as proteínas ficavam diluídos. Desta forma, testes com rotaevaporação foram realizados a fim

Capítulo II

de avaliar se a aplicação desta etapa diminuiria o efeito de diluição, favorecendo a precipitação alcoólica.

Assim, após a neutralização, adição do etanol e agitação por 45 min, a solução foi rotaevaporada (Heidolph, Hei-VAP Silver, Alemanha) a 30 °C e pressão de 7kPa por, aproximadamente, 90 minutos. Em seguida, a suspensão foi centrifugada (Thermo, CR3i, EUA) a 2.900 x g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com água e centrifugado a 2.900 x g por 10 min a 4 °C, sendo essa etapa repetida três vezes. Após as lavagens, o precipitado foi coletado e congelado. Após congelamento, as proteínas foram submetidas a secagem em liofilizador conforme descrito no item II. 2.2.3.1. As amostras obtidas na rotaevaporação foram denominadas como precipitação alcoólica com extrato neutralizado e rotaevaporação (DSEt – APN – R e DSHx – APN – R).

II. 2.2.3.4. Cinética de precipitação alcoólica

Para avaliar se o tempo de agitação utilizado era suficiente para precipitar as proteínas, foram testados tempos de agitação de 45, 60, 120 e 180 min após a adição do etanol. Nesse caso, todos os extratos foram neutralizados para pH 7,0 antes da precipitação uma vez que a neutralização permitiu obtenção de maior teor de proteínas. Com o tempo de agitação finalizado, as amostras foram centrifugadas, lavadas, congeladas e liofilizadas conforme descrito no item II. 2.2.3.1.

II. 2.2.4. Caracterização das proteínas liofilizadas

As proteínas liofilizadas obtidas por precipitação isoelétrica (DSEt – IP e DSHx – IP) e por precipitação alcoólica com neutralização do extrato antes da adição de etanol com tempo de agitação de 60 minutos (DSEt – AP e DSHx – AP) foram caracterizadas em termos de: umidade pelo sistema de secagem a alta temperatura *Dryer HCl filter* (Ankom, RD, EUA) por 3 h a 105 °C, cinzas (900.02, IUPAC, 1979) foram quantificadas por incineração em mufla (Marconi, MA385/3, Brasil), teor de lipídios e proteínas conforme descrito no item II.2.2.2. O conteúdo de PC presente nas proteínas liofilizadas foi determinado conforme descrito no Capítulo I desta dissertação (item I.2.2.1).

O índice de solubilidade proteica, expresso como índice de solubilidade de nitrogênio (NSI), foi determinado segundo metodologia proposta por Morr *et al.* (1985), utilizando água como solvente a 25 °C em pH 9,0. O NSI foi calculado pela Equação II.5:

$$NSI (\%) = 100 \times \frac{N^{liquid\ phase} \times M^{water}}{N^{sample} \times M^{sample}} \quad (II.5)$$

Onde $N^{liquid\ phase}$ corresponde ao teor de nitrogênio na amostra filtrada (%); N^{sample} corresponde ao teor de nitrogênio na amostra sólida (%); M^{sample} representa a massa de amostra (g) e M^{water} representa a massa de água (g).

As propriedades funcionais das proteínas foram determinadas como capacidade de absorção de água (WAC, *water absorption capacity*) pelo método sugerido por Beuchat (1977) com modificações sugeridas por Wu *et al.* (2009). Cerca de 0,5 g das proteínas liofilizadas foram pesadas e diluídas em 20 g de água destilada em tubo de centrífuga de 50 mL previamente pesado em balança analítica (Adam, PW-254, Reino Unido). Os tubos foram submetidos a agitação por 60 min e centrifugados a 3.000 x g por 30 min a 25 °C. Imediatamente após a centrifugação, os tubos foram vertidos e os sobrenadantes descartados. O tubo foi pesado juntamente com o sedimento. A capacidade de retenção de água (g água / g concentrado proteico) foi calculada conforme a Equação II.6:

$$WAC = \frac{w^2 - w^1}{w^0} \quad (II.6)$$

Onde w^0 é a massa da amostra seca (g), w^1 é a massa do tubo com a amostra seca (g) e w^2 é a massa do tubo com sedimento (g).

Para a determinação da capacidade de absorção de óleo (OAC, *oil absorption capacity*), foi utilizado o método sugerido por Chakraborty (1986) com modificações sugeridas por Wu *et al.* (2009). Foram pesados cerca de 0,5 g de proteína liofilizada (w^0) e 20 g de óleo de soja (V^1) em tubo de centrífuga de 50 mL. As amostras foram agitadas por 60 minutos em agitador de tubos automático (Heidolph, multi Reax, Alemanha) e, em seguida, foram centrifugadas (Thermo, CR3i, EUA) a 3.000 x g por 30 min. Imediatamente após a centrifugação, os sobrenadantes foram descartados e o tubo foi pesado juntamente com o sedimento (V^2). A capacidade de absorção de óleo (g óleo / g concentrado proteico) foi calculada através da Equação II.7:

$$OAC = \frac{V^1 - V^2}{w^0} \quad (II.7)$$

Capítulo II

A atividade emulsificante e estabilidade da emulsão foram determinadas pelo método sugerido por Pearce e Kinsella (1978) com modificações sugeridas por Wu *et al.* (2009), conforme descrito no item II. 2.2.2. Para a medição da capacidade de formação de espuma (FAI) foi utilizado metodologia descrita por Yadav, Yadav e Chaudhary (2011) e para a estabilidade da espuma, foi utilizado o procedimento descrito por Privatti (2023) conforme descrito no item II. 2.2.2.

A determinação da cor instrumental das proteínas liofilizadas foi realizada em espectrofotômetro de refletância sem contato (HunterLab, Eros, EUA). Foram calculados o ângulo hue (h°) (Equação II.8) e a mudança de cor total (ΔE) (Equação II.9) segundo metodologia proposta por McGuire (1992) e Li *et al.* (2012), respectivamente. As cores dos DSEt e DSHx também foram medidas, usadas como referência (DS) a fim de possibilitar o cálculo de ΔE .

$$^\circ h = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (\text{II.8})$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_{DS}^*)^2 + (b^* - b_{DS}^*)^2 + (a^* - a_{DS}^*)^2} \quad (\text{II.9})$$

Onde L^* é referente a luminosidade, a^* é referente a coordenada vermelho/verde e b^* é referente a coordenada amarelo/azul.

A análise de calorimetria diferencial por varredura (DSC) foi realizada utilizando o método descrito por Capellini *et al.* (2019). Desse modo, as amostras foram preparadas com umidade de aproximadamente 20%, seladas hermeticamente em cápsulas de alumínio e mantidas em temperatura controlada de 25 °C por 24 h. As amostras foram analisadas no equipamento DSC TA2010 (TA Instruments, Dinamarca), aquecidas de 20 a 120 °C com rampa de temperatura de 10°C/min. Para referência foi utilizada uma cápsula vazia e como padrão para calibração foi utilizado Índio (TA Instruments). Para calcular a entalpia de desnaturação (ΔH) e a temperatura de pico de desnaturação (T_d) foi utilizado o software Universal Analyse V.3.9A (TA Instruments).

II.2.2.5. Análise estatística

Os experimentos de extração foram realizados ao menos em duplicata enquanto as caracterizações foram realizadas em triplicata ou quintuplicata. Os resultados foram

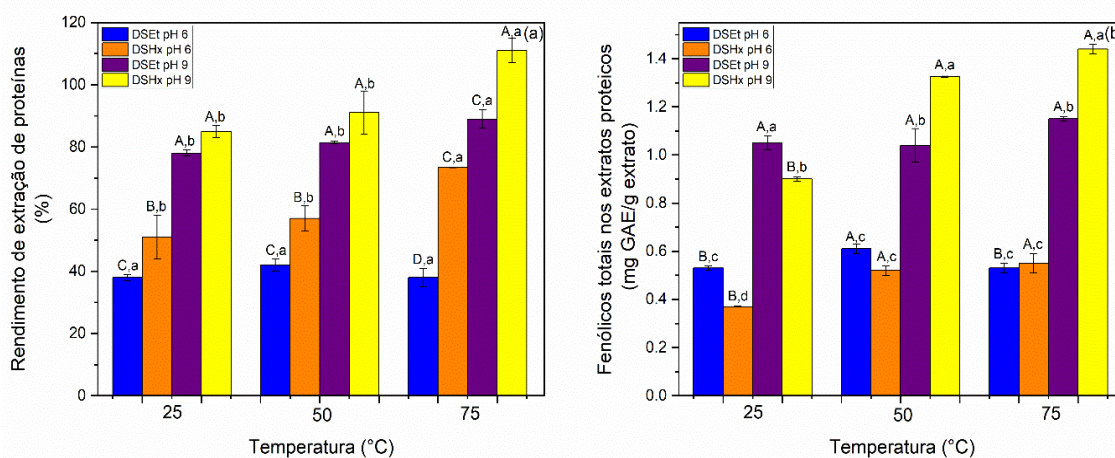
avaliados quanto à significância usando o teste de comparações múltiplas de Duncan através do programa SAS® (versão 9.3, SAS Institute Inc., EUA) e Teste t através do *software* R Core Team (The R Foundation, Austria, 2022).

II. 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

II. 3.1. Extração de proteínas

Conforme descrito na seção II. 2.2.1, foram realizados experimentos preliminares de extração de proteínas dos DSEt e DSHx com o objetivo de avaliar o efeito da temperatura e do pH sobre o rendimento de extração (Y_p). Também foi avaliado o teor de fenólicos totais (PC) em função do pH e da temperatura nos extratos proteicos. Os resultados obtidos nas extrações a 25, 50 e 75 °C são apresentados na Figura II.2.

Figura II. 2. Extração de proteínas dos DSEt e DSHx em função do pH e temperatura. (a) rendimento de extração de proteínas (%); (b) teor de fenólicos totais nos extratos proteicos (mg GAE/g extrato).



Letras maiúsculas iguais não indicam diferença significativa na comparação entre diferentes pHs na mesma temperatura; letras minúsculas não apresentam diferença significativa na comparação entre mesmo pH em diferentes temperaturas. Comparações realizadas ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Fonte: própria autoria.

A proteína de amendoim é composta por albuminas e, principalmente, globulinas que correspondem a cerca de 87%. A araquina e conaraquina são as principais proteínas globulares e apresentam solubilidade em água devido às cadeias de aminoácidos dobradas, nas quais os grupos polares de átomos se encontram na superfície enquanto o lado apolar interage com o núcleo (ARTHUR JR, 1953; GHATAK; SEN, 2013).

Na Figura II. 2(a), observa-se que entre 25 e 50 °C não houve diferença significativa no rendimento de extração de proteínas (Y_p) ($p > 0,05$). Entretanto, a 75 °C, foi possível obter maiores rendimentos, tanto para DSEt quanto para DSHx. Gayol *et al.* (2013) avaliaram a extração de proteínas de amendoim em diferentes condições de pH, temperatura, solvente e razão sólido:solvente. Os autores relataram maior rendimento com extração em água, razão sólido:solvente de 1:10, pH entre 9,0 e 10,0. Para a temperatura, os autores não observaram diferenças significativas entre 40 e 60 °C.

O uso de pH 9,0 possibilitou maior extração, uma vez que o uso de álcali quebra as pontes dissulfeto das proteínas aumentando a sua solubilidade. No entanto, o uso de álcali também apresenta desvantagens como extração não seletiva de outros compostos, além de favorecer alterações nas estruturas proteicas (HARIHARAN; PATTI; ARORA, 2023).

Observa-se que a extração do DSHx, a 75 °C em pH 9,0, apresentou solubilidade proteica maior que 100%. Tal valor pode ser atribuído à hidrólise das proteínas provocada pela temperatura elevada associada ao pH alcalino. Tal fato pode proporcionar mudanças no comprimento da cadeia peptídica produzindo maior liberação de aminoácidos livres e H^+ , resultando em diminuição do pH e uso de maior quantidade de álcali (ZHANG *et al.*, 2022). O grau de hidrólise pode influenciar nas propriedades funcionais das proteínas, uma vez que pode aumentar a quantidade de peptídeos de baixo peso molar ou degradar os já existentes (JAMDAR *et al.*, 2010).

Ademais, o aumento do pH e da temperatura também proporcionou maior extração de PC (Figura II. 2(b)). Segundo Pinton *et al.* (2022), o pH alcalino possui maior capacidade de liberar compostos fenólicos que se encontram ligados na parede celular. Isso ocorre através da clivagem das ligações éster e éter em polissacarídeos, fibras e proteínas. Os dados obtidos corroboram os resultados apresentados pelos autores, que avaliaram o efeito do pH e temperatura na extração de compostos fenólicos presentes em bagaço de uva e obtiveram maior teor de fenólicos em pH 8 a 50 °C.

A maior temperatura empregada pode ter favorecido o aumento da solubilidade dos compostos fenólicos, que são facilmente solubilizados por solventes polares, como água, etanol e outros solventes orgânicos (BODOIRA *et al.*, 2022; LIYANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005). Sendo assim, devido à maior polaridade da água em relação aos outros solventes, foi possível extrair esses compostos concomitante às proteínas.

A Figura II.3 demonstra a diferença de cor dos extratos proteicos obtidos, observada para os diferentes pHs de extração. Pode-se atribuir tal fato à hidroxilação dos anéis

aromáticos presentes nos compostos fenólicos, uma vez que o meio alcalino e a temperatura empregada na extração de proteínas também favoreceram a extração desses compostos (WANG et al., 2019).

Figura II.3. Extratos proteicos obtidos a partir dos DSEt e DSHx em função do pH e temperatura. (a) extração de proteínas em pH 6,0 a 25, 50 e 75 °C; (b) extração de proteínas em pH 9,0 a 25, 50 e 75 °C.

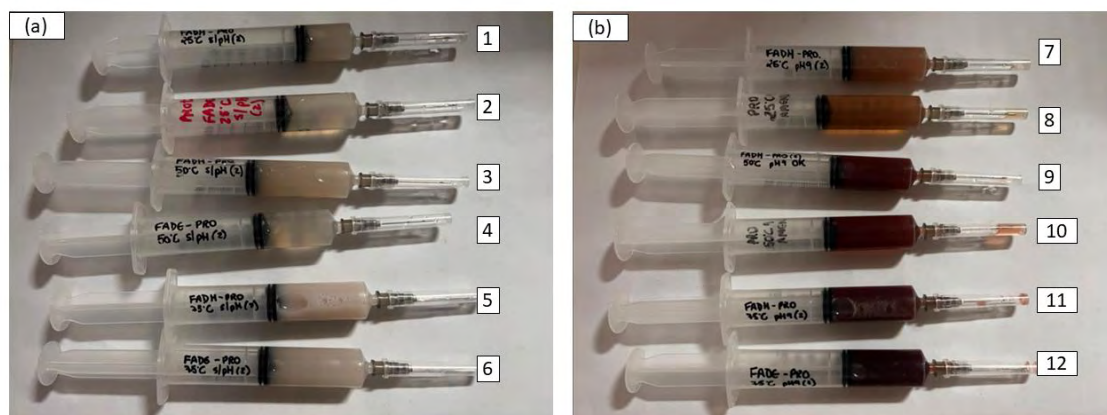


Figura (a): 1 = DSHx a 25 °C em pH 6,0; 2 = DSEt a 25 °C em pH 6,0; 3 = DSHx a 50 °C em pH 6,0; 4 = DSEt a 50 °C em pH 6,0; 5 = DSHx a 75 °C em pH 6,0; 6 = DSEt a 75 °C em pH 6,0. Figura (b): 7 = DSHx a 25 °C em pH 9,0; 8 = DSEt a 25 °C em pH 9,0; 9 = DSHx a 50 °C em pH 9,0; 10 = DSEt a 50 °C em pH 9,0; 11 = DSHx a 75 °C em pH 9,0; 12 = DSEt a 75 °C em pH 9,0.

Fonte: própria autoria.

A capacidade emulsificante (EAI) e capacidade de formação de espuma (FAI) com suas respectivas estabilidades foram determinadas para os extratos obtidos a 50 e 75 °C, resultados apresentados na Tabela II.1. Observa-se que o pH e a temperatura influenciaram na capacidade emulsificante dos extratos, tanto para DSEt quanto para DSHx.

Wu *et al.* (2009) relataram maior EAI com pH de 8,0 e 10,0. Segundo os autores, a atividade emulsificante está relacionada à solubilidade das proteínas, uma vez que tanto a solubilidade quanto a formação de emulsão dependem do equilíbrio hidrofílico-lipofílico, que pode ser afetado pelo pH. Dessa forma, o aumento da solubilidade pode facilitar uma maior interação da proteína com a fase oleosa e a fase aquosa.

Em pH alcalino, o aumento da temperatura proporcionou melhora na atividade emulsificante dos extratos, provavelmente devido ao aumento da solubilidade das proteínas e da hidrofobicidade da superfície. Em contrapartida, em pH 6,0 houve diminuição na atividade emulsificante, que pode estar relacionada à menor solubilidade proteica. De

Capítulo II

forma geral, os extratos proteicos apresentaram alta estabilidade de emulsão ($p > 0,05$), independentemente do pH.

Os extratos obtidos a partir do DSEt em meio alcalino apresentaram maior capacidade de formação de espuma (FAI) que os extratos obtidos a partir de DSHx. Em adição, DSEt não apresentaram diferença estatisticamente significativa quanto à estabilidade da espuma ($p > 0,05$) (Tabela II. 1).

A proteína total do amendoim apresenta maior capacidade de formação de espuma em comparação com suas frações proteicas (araquina e conaraquina). Ghatak e Sen (2013) apontam que, após hidrólise, essa propriedade pode ser melhorada. Entretanto, segundo Jamdar *et al.* (2010), peptídeos menores podem apresentar maior capacidade de incorporar ar para a formação da espuma, porém não possuem força suficiente para garantir sua estabilidade. Além disso, a hidrólise pode alterar a polaridade ou a hidrofobicidade dos peptídeos afetando a estabilidade da emulsão e a formação de espuma. Os menores valores de capacidade de formação e estabilidade da espuma encontrada para o DSHx corroboram os dados encontrados por Jamdar *et al.* (2010).

Com base nos resultados de rendimento de extração, atividade e estabilidade de emulsão e espuma, os experimentos de extração de proteínas subsequentes foram realizados a 75 °C em pH 9,0 a fim de obter extratos com maior teor de proteínas para as precipitações isoelétrica e alcoólica.

Tabela II.1. Capacidade emulsificante e capacidade de formação de espuma com suas respectivas estabilidades para os extratos proteicos obtidos a partir do DSEt e DSHx em pH 6 e 9, a 50 e 75 °C.

	Tratamentos	Emulsão			FSI (%)				
		EAI (m ² /g)	ESI (% em 10 minutos)	FAI (%)	10 minutos	30 minutos	45 minutos	60 minutos	
DSEt	pH 6	50 °C	21 ± 2 ^{A,c}	92 ± 7 ^{A,a}	21 ± 2 ^{B,b}	n.f.e	n.f.e	n.f.e	n.f.e
		75 °C	14,9 ± 0,4 ^{B,c}	92 ± 1 ^{A,a}	50,0 ± 0,1 ^{A,a}	80,0 ± 0,1 ^{A,a}	60,0 ± 0,1 ^b	n.f.e	n.f.e
	pH 9	50 °C	36 ± 1 ^{C,a}	88 ± 4 ^{A,a}	50,0 ± 0,1 ^{A,a}	90 ± 14 ^{A,a}	80,0 ± 0,1 ^A	70 ± 14 ^A	70 ± 14 ^A
		75 °C	64 ± 3 ^{A,a}	76 ± 9 ^{A,b}	50,0 ± 0,1 ^{A,a}	90 ± 14 ^{A,a}	90 ± 14 ^{A,a}	90 ± 14 ^A	80 ± 28 ^A
DSHx	pH 6	50 °C	24,4 ± 0,4 ^{A,c}	88 ± 3 ^{A,a}	20,0 ± 0,1 ^{B,b}	n.f.e	n.f.e	n.f.e	n.f.e
		75 °C	12 ± 2 ^{B,c}	94 ± 4 ^{A,a}	n.f.e	n.f.e	n.f.e	n.f.e	n.f.e
	pH 9	50 °C	36 ± 2 ^{C,a}	92 ± 8 ^{A,a}	n.f.e	n.f.e	n.f.e	n.f.e	n.f.e
		75 °C	41 ± 1 ^{B,b}	84 ± 15 ^{A,ab}	40,0 ± 0,1 ^{B,b}	n.f.e	n.f.e	n.f.e	n.f.e

Resultados expressos como média ± desvio padrão. n.f.e = não formou espuma.

Letras maiúsculas iguais não indicam diferença significativa na comparação entre diferentes temperaturas no mesmo pH; letras minúsculas não apresentam diferença significativa na comparação entre diferentes pHs na mesma temperatura. Comparações realizadas ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Fonte: própria autoria.

II. 3.2. Precipitação de proteínas

A obtenção de proteínas vegetais consiste, inicialmente, na sua extração para que, posteriormente, possam ser recuperadas de forma seletiva uma vez que compostos como carboidratos e lipídios também podem se solubilizar nas mesmas condições.

A IP, comumente empregada para obtenção de proteínas vegetais, consiste no ajuste de pH para o ponto isoelétrico que, para as proteínas de amendoim, corresponde a faixa de pH entre 4 e 4,5. A purificação das proteínas também pode ser conduzida a partir da adição de substâncias que promovam a precipitação seletiva destas, sem necessidade de ajuste de pH, como por exemplo com o uso do etanol (MOURE et al., 2006).

Dessa forma, a partir dos extratos proteicos obtidos dos DSEt e DSHx a 75 °C em pH alcalino, as proteínas foram purificadas por IP e AP. Na Figura II. 4 são demonstrados os resultados do teor de proteínas (%).

Segundo Boukid (2022) a obtenção de proteínas por extração com solução alcalina e IP, método comumente utilizado, apresenta vantagens por ser simples e rápido. Além disso, possibilita obtenção de alto rendimento de purificação, conforme obtido para DSEt e DSHx de 78 ± 3 e 73 ± 3 (% mássica em base seca), respectivamente (Figura II.4(a)). Gayol *et al.* (2013) avaliaram diferentes pHs alcalinos na extração de proteínas de amendoim seguido de IP. Para as extrações utilizando água como solvente com pH 8,0, 9,0 e 10,0, os resultados obtidos pelos autores variaram entre 77,5 e 80,9%, condizentes com os resultados obtidos no presente trabalho.

Wu *et al.* (2009) obtiveram 96,6% (base seca) através da extração em solução alcalina (pH 8,5) e precipitação isoelétrica (pH 4,5). A diferença no teor de proteínas presente no material obtido pelos autores em relação aos resultados do presente trabalho pode ser atribuída aos diferentes valores dos materiais de partida, uma vez que os DSEt e DSHx apresentavam teores proteicos de 45,2 e 47,5 (% mássica em base seca), respectivamente. Os autores reportaram teor de lipídios e proteínas de 1,5 e 55,8% (base seca), respectivamente, para a farinha de amendoim desengordurada com solvente composto por butano e propano.

Ainda na Figura II.4, observa-se que o teor proteico nos concentrados obtidos a partir da precipitação alcoólica com extrato neutralizado (AP – N) foi superior ao obtido por precipitação alcoólica com extrato alcalino (AP – A) ($p \leq 0,05$). A neutralização pode ter favorecido a precipitação das proteínas uma vez que em pH 7,0 estas possuem solubilidade menor quando comparada a solubilidade em pH 9,0.

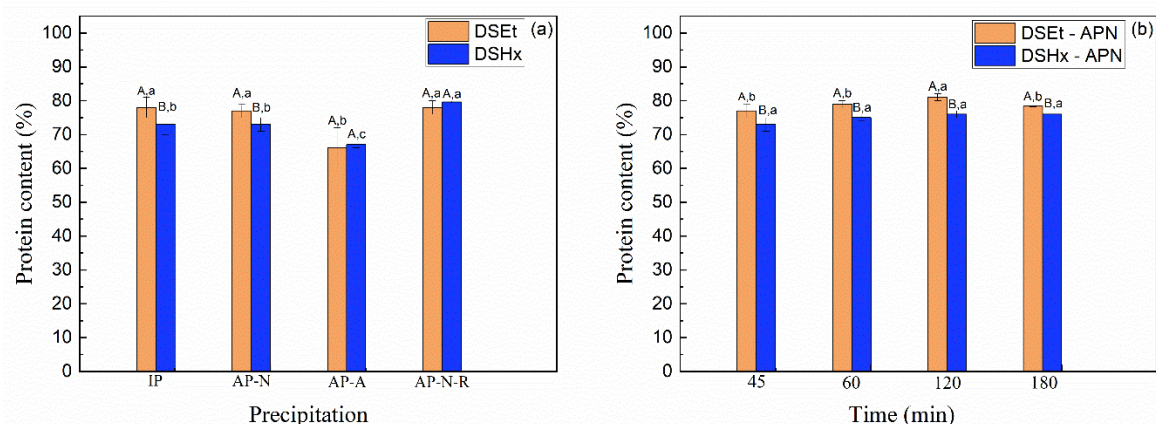
A rotaevaporação empregada na precipitação alcoólica com extrato neutralizado (APN – R) devido ao seu maior conteúdo de proteínas, teve como objetivo reduzir a diluição provocada pela adição do etanol, buscando aumentar a precipitação das proteínas. Para o DSEt observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre IP, AP – N e APN – R ($p > 0,05$). Em contrapartida, o emprego da rotaevaporação para o DSHx permitiu obtenção de maior teor de proteínas quando comparado a IP e AP – N ($p \leq 0,05$) (Figura II.4(a)).

A partir dos resultados da rotaevaporação e, buscando avaliar se maior tempo de contato proteína/etanol poderia aumentar a precipitação das proteínas, fez-se o estudo da cinética de precipitação alcoólica. Para DSEt obteve-se maior teor de proteínas com tempo de precipitação de 120 minutos, enquanto para o DSHx não houve diferença estatisticamente significativa entre 60, 120 e 180 minutos ($p > 0,05$).

O estudo da cinética de precipitação com etanol demonstrou que maior tempo de agitação é necessário para promover a agregação das proteínas, porém os tempos de 60, 120 e 180 minutos não apresentaram diferença significativa tanto para DSEt quanto para DSHx, indicando que 60 minutos pode proporcionar completa precipitação (Figura II.4(b)).

Os concentrados obtidos por AP – A apresentaram menor teor de proteínas quando comparados as outras precipitações, possivelmente devido ao fato de o extrato estar em pH alcalino no qual as proteínas se encontram mais solúveis (Figura II.4). Apesar da diferença estatística entre as precipitações, a AP não apresentou valores consideravelmente diferentes em relação aos obtidos por IP. Segundo Bohórquez (2014), a utilização do etanol como agente precipitante provoca a diminuição da constante dielétrica do solvente, resultando em agregação das proteínas devido à interação de cargas.

Figura II.4. Teor de proteínas (%) dos concentrados proteicos liofilizados obtidos por diferentes métodos de precipitação.



IP = precipitação isoeletrica; AP – N = precipitação alcoólica com extrato neutralizado (pH 7); AP – A = precipitação alcoólica com extrato alcalino (pH 9); APN – R = precipitação alcoólica com extrato neutralizado seguido de rotaevaporação. Resultados expressos como média \pm desvio padrão de 2 repetições. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma precipitação para diferentes DS não diferem entre si. Médias seguidas por letras minúsculas iguais para o mesmo DS em diferentes precipitações não diferem entre si. Comparações realizadas ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Fonte: própria autoria.

A análise colorimétrica foi realizada a partir dos parâmetros de luminosidade (L^*), coordenada vermelho/verde (a^*), coordenada amarelo/azul (b^*), mudança de cor (ΔE) e ângulo hue ($^\circ h$), apresentada na Tabela II.2, enquanto a Figura II.5 traz as imagens das proteínas liofilizadas. Os parâmetros de cor apresentam grande importância tanto para a aplicação do produto na indústria quanto para a aceitação dos consumidores (WANG et al., 2019). Conforme demonstrado na Figura II. 5, os concentrados proteicos apresentaram coloração avermelhada, tal característica foi observada apenas com uso de pH 9,0, conforme discutido no item II.3.1 (Figura II.3). De maneira geral, os parâmetros de cor não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (Tabela II.2).

O uso do etanol na etapa de precipitação proporcionou teores proteicos semelhantes aos obtidos na precipitação isoeletrica, além de auxiliar na remoção de carboidratos, aminoácidos livres e componentes de cor (HARIHARAN; PATTI; ARORA, 2023). Com base nos experimentos de precipitação alcoólica (Figura II.4) e os teores de proteínas obtidos, optou-se por realizar a precipitação com extrato neutralizado (DSEt – AP – N e DSHx – AP – N) com tempo de precipitação de 60 minutos.

Tabela II. 2. Análise colorimétrica dos concentrados proteicos obtidos por precipitação isoeletrica e precipitação alcoólica.

	Tratamentos	Cor					
		L*	a*	b*	ΔE	°hue	
DSEt	IP	32,1 ± 0,4 ^D	14 ± 2 ^{ABC}	10 ± 2 ^E	52,6 ± 0,4 ^D	36,3 ± 1,5 ^G	
	AP – N	29 ± 2 ^E	13 ± 1 ^C	10,2 ± 0,2 ^E	56 ± 2 ^{BC}	37 ± 1 ^{FG}	
	AP – A	32 ± 1 ^D	14 ± 2 ^{ABC}	12 ± 2 ^{BCDE}	53 ± 1 ^D	41 ± 1 ^{CD}	
	APN – R	37 ± 2 ^C	16 ± 1 ^A	14 ± 2 ^{ABC}	49 ± 2 ^E	40 ± 2 ^{CDEF}	
DSHx	IP	34,7 ± 0,1 ^{CD}	13,82 ± 0,01 ^{ABC}	11,3 ± 0,5 ^{CDE}	52,51 ± 0,02 ^D	39,3 ± 1,2 ^{DEF}	
	AP – N	41 ± 2 ^{AB}	16,6 ± 0,2 ^A	16,0 ± 0,4 ^A	47,0 ± 1,4 ^{EF}	44 ± 1 ^B	
	AP – A	26 ± 1 ^E	13,7 ± 0,4 ^{ABC}	11 ± 1 ^{DE}	61 ± 1 ^A	38 ± 1 ^{EFG}	
	APN – R	44 ± 2 ^A	13,7 ± 0,4 ^{ABC}	16,2 ± 0,2 ^A	43,5 ± 1,5 ^G	49,8 ± 0,3 ^A	
Cinética Precipitação alcoólica (PA-N)	DSEt	60 min	27 ± 2 ^E	13 ± 2 ^{BC}	11 ± 2 ^{DE}	58 ± 3 ^B	38 ± 1 ^{DEFG}
		120 min	32 ± 1 ^D	16 ± 1 ^{ABC}	13 ± 1 ^{ABCD}	53 ± 1 ^{CD}	39,9 ± 0,3 ^{CDEF}
		180 min	33 ± 1 ^D	15,4 ± 0,3 ^{ABC}	13 ± 1 ^{ABCD}	52,4 ± 0,3 ^D	41 ± 2 ^{CD}
	DSHx	60 min	35,2 ± 0,3 ^{CD}	15,33 ± 0,04 ^{ABC}	12,9 ± 0,4 ^{BCDE}	52,4 ± 0,4 ^D	40 ± 1 ^{CDE}
		120 min	44 ± 3 ^A	16,4 ± 0,2 ^A	14,8 ± 0,4 ^{AB}	45 ± 3 ^{FG}	42,0 ± 0,4 ^{BC}
		180 min	40 ± 1 ^B	16 ± 1 ^{AB}	14 ± 1 ^{ABC}	48,0 ± 0,3 ^E	40,8 ± 0,2 ^{CD}

DSEt = sólido desengordurado com etanol; DSHx = sólido desengordurado com hexano; IP = precipitação isoeletrica; AP – N = precipitação alcoólica com extrato neutralizado (pH 7); AP – A = precipitação alcoólica com extrato alcalino (pH 9); APN – R = precipitação alcoólica com extrato neutralizado seguido de rotaevaporação. Resultados expressos como média ± desvio padrão de 2 repetições. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si. Comparações realizadas ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Fonte: própria autoria.

Figura II. 5. Concentrados proteicos de amendoim obtidos a partir da precipitação isoeletrica e diferentes métodos de precipitação alcoólica.



DSEt = sólido desengordurado com etanol; DSHx = sólido desengordurado com hexano; IP = precipitação isoeletrica; AP - N = precipitação alcoólica com extrato neutralizado (pH 7); AP - A = precipitação alcoólica com extrato alcalino (pH 9); APN - R = precipitação alcoólica com extrato neutralizado seguido de rotaevaporação.

Fonte: própria autoria

II. 3.3. Caracterização dos concentrados proteicos

Os concentrados proteicos obtidos a partir dos DSEt e DSHx por precipitação isoelétrica (DSEt – IP e DSHx – IP) e precipitação alcoólica com extrato neutralizado (DSE – AP – N e DSHx – AP – N) foram caracterizados conforme apresentado na Tabela II.3.

O concentrado proteico obtido a partir do DSHx apresentou diferença quanto a umidade comparando as diferentes precipitações ($p \leq 0,05$), enquanto para o DSEt não houve diferença significativa ($p > 0,05$). O concentrado/isolado proteico obtido de amendoim bambara por Lawal *et al.* (2007) foi obtido por extração em solução alcalina e precipitação isoelétrica com secagem por liofilização. Os autores reportaram umidade de 7,2% nos concentrados. Wu *et al.* (2009) reportaram umidades entre 1,48 e 1,61% para os concentrados obtidos através da combinação de extração aquosa, alcalina e hidroalcoólica com precipitação isoelétrica e alcoólica seguido de secagem por liofilização. Pode-se inferir que os altos valores de umidade correspondam a água ligada às proteínas, uma vez que os materiais foram submetidos a duas etapas de 48 h de liofilização.

Tabela II. 3. Composição centesimal dos concentrados proteicos obtidos por diferentes métodos de precipitação.

	<i>Precipitação isoelétrica</i>		<i>Precipitação alcoólica</i>	
	<i>DSEt – IP</i>	<i>DSHx – IP</i>	<i>DSEt – AP – N</i>	<i>DSHx – AP – N</i>
Umidade	16 ± 1 ^{A,a}	12 ± 1 ^{B,b}	16 ± 1 ^{B,a}	19 ± 2 ^{A,a}
Lipídios ^a	0,8 ± 0,1 ^{A,a}	1,2 ± 0,1 ^{A,b}	1,10 ± 0,03 ^{B,a}	1,1 ± 0,1 ^{B,a}
Proteínas ^{a,b}	78 ± 3 ^{A,a}	73 ± 3 ^{A,a}	75 ± 1 ^{A,a}	74 ± 2 ^{A,a}
Cinzas ^a	1,4 ± 0,1 ^{B,b}	2,1 ± 0,1 ^{B,a}	2,1 ± 0,1 ^{A,b}	3,0 ± 0,2 ^{A,a}
Carboidratos totais ^{a,c}	20 ± 3 ^{B,a}	25 ± 3 ^{A,a}	25 ± 1 ^{A,a}	22 ± 2 ^{A,a}
PC ^d	0,67 ± 0,03 ^{A,b}	0,86 ± 0,04 ^{A,a}	0,27 ± 0,01 ^{B,a}	0,29 ± 0,02 ^{B,a}

^a % mássica em base seca; ^b N x 5,46; ^c calculado por diferença; ^d mg GAE/g proteína.

Resultados expressos como média ± desvio padrão de 2 repetições. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não indicam diferença significativa na comparação entre o mesmo método de precipitação para os diferentes DSs. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si na comparação entre diferentes precipitações para o mesmo DS. Comparações realizadas ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Fonte: própria autoria.

Capítulo II

De forma geral, a composição dos concentrados proteicos está coerente com os dados reportados por Wu *et al.* (2009) e Jamdar *et al.* (2010). Observa-se que os métodos de precipitação possibilitaram a obtenção de concentrados com baixo teor de lipídios. Conforme descrito no Capítulo I desta dissertação (item I.3.5), os DSEt e DSHx, materiais submetidos a extração de proteínas, apresentavam teor de lipídios de $14,5 \pm 0,2$ e 10 ± 1 % (base seca), respectivamente. Os sólidos obtidos da etapa de extração de proteínas a partir de DSEt e DSHx apresentaram os seguintes teores de lipídeos 17 ± 1 e $14 \pm 0,4$ % (base seca), respectivamente. Com base nos teores de lipídeos nas fases sólidas, antes e após extração de proteínas, pode-se inferir que a etapa de extração de proteínas não afetou os teores de lipídios residuais contidos nos sólidos residuais desta etapa de extração.

Os valores de cinzas determinados para DSEt e DSHx foram $3,5 \pm 0,1$ e $3,7 \pm 0,2$ %, respectivamente, conforme descrito no Capítulo I desta dissertação (item I.3.5). Os concentrados proteicos apresentaram teor de cinzas entre 1,4 e 3,0%. De acordo com Wu *et al.* (2009), os ácidos e álcalis utilizados no processo podem contribuir para a formação de sais, resultando no aumento da quantidade de cinzas.

Asen *et al.* (2021) avaliaram o teor de PC no concentrado proteico de amendoim obtido por extração em solução alcalina e precipitação isoelétrica. Os autores reportaram PC de 0,06 mg GAE/g peso seco tanto para o sólido de amendoim desengordurado quanto para o concentrado proteico. A partir dos valores obtidos (Tabela II.3), pode-se inferir que o menor teor presente no DSEt – IP quando comparado ao DSHx – IP tenha decorrido da etapa de extração do óleo residual da torta de amendoim para obtenção do DS, uma vez que o Et utilizado como solvente tem capacidade de extração de compostos fenólicos, devido à sua maior polaridade (BODOIRA *et al.*, 2022). A precipitação alcoólica proporcionou menor teor de PC nos concentrados proteicos em comparação com IP.

Pode-se supor que, em ambos os casos, o etanol utilizado na etapa de extração de lipídios e na etapa precipitação de proteínas tenha extraído os compostos ou que os mesmos tenham sido degradados pela temperatura utilizada (BODOIRA *et al.*, 2022; LI-YANA-PATHIRANA; SHAHIDI, 2005; PINTON *et al.*, 2022).

As propriedades funcionais dos concentrados proteicos obtidos foram determinadas em termos de índice de solubilidade de nitrogênio (%), capacidade de absorção de água e óleo (WAC e OAC, respectivamente), capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão, capacidade de formação de espuma e estabilidade, conforme apresentado na Tabela II.4.

Capítulo II

Segundo Moure *et al.* (2006), as propriedades funcionais da água podem ser divididas de acordo com o mecanismo de ação como propriedades relacionadas a hidratação (solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo) e propriedades relacionadas com a superfície da proteína (capacidade emulsificante e formação de espuma). As interações proteína-água favoráveis estão associadas com seu perfil de aminoácidos.

Observa-se que as proteínas DSEt – IP e DSEt – AP apresentaram maior NSI e WAC. Os valores de WAC determinados para os sólidos desengordurados DSEt e DSHx foram 5,3 e 3,8 g água/g DS, respectivamente, enquanto os valores de OAC foram a 2,4 e 2,1 g óleo/g DS, respectivamente. Pode-se inferir que o uso do etanol tenha proporcionado nova conformação proteica devido à quebra hidrolítica, expondo mais grupos hidrofílicos, aumentando, dessa forma, a solubilidade proteica e capacidade de absorção de água. Entretanto, nota-se diminuição da OAC em relação aos DSs, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os concentrados proteicos.

Tabela II.4. Propriedades funcionais dos concentrados proteicos de amendoim.

	<i>Precipitação isoelétrica</i>		<i>Precipitação alcoólica</i>	
	<i>DSEt</i>	<i>DSHx</i>	<i>DSEt</i>	<i>DSHx</i>
ISN (%)	104,54 ± 0,01 ^{A,a}	88 ± 4 ^{A,b}	104 ± 5 ^{A,a}	81 ± 2 ^{A,b}
WAC (g água/g concentrado proteico)	9 ± 1 ^{A,a}	7,7 ± 0,2 ^{A,b}	8 ± 1 ^{A,a}	6,6 ± 0,2 ^{B,b}
OAC (g óleo/g concentrado proteico)	1,5 ± 0,2 ^{A,a}	1,26 ± 0,02 ^{A,b}	1,2 ± 0,1 ^{A,a}	1,06 ± 0,03 ^{B,b}
EAI (m²/g)	49 ± 3 ^{A,a}	48,1 ± 0,4 ^{A,a}	45 ± 4 ^{A,a}	17 ± 1 ^{B,b}
ESI (%)	52 ± 3 ^{A,a}	48,4 ± 0,2 ^{A,b}	44 ± 1 ^{B,a}	34 ± 3 ^{B,b}
FAI (%)	43 ± 0,1 ^{B,a}	43 ± 0,1 ^{B,a}	71 ± 0,1 ^{B,a}	68 ± 5 ^{A,a}
FSI (%) – 10	83 ± 0,1 ^{A,a}	83 ± 0,1 ^{A,a}	80 ± 0,1 ^{B,a}	58 ± 3 ^{B,b}
FSI (%) – 30	83 ± 0,1 ^{A,a}	67 ± 0,1 ^{A,b}	50 ± 0,1 ^{B,a}	42 ± 3 ^{B,b}
FSI (%) – 45	83 ± 0,1 ^{A,a}	50 ± 0,1 ^{A,b}	40 ± 0,1 ^{B,a}	42 ± 3 ^{B,a}
FSI (%) – 60	83 ± 0,1 ^{A,a}	50 ± 0,1 ^{A,b}	40 ± 0,1 ^{B,a}	32 ± 2 ^{B,b}

Resultados expressos como média ± desvio padrão de 2 repetições. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não indicam diferença significativa comparando a mesma precipitação para os diferentes DSs. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si comparando o mesmo DS para diferentes precipitações. Comparações realizadas ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Fonte: própria autoria.

Quanto às propriedades relacionadas a superfície das proteínas, observa-se menor EAI e ESI para as proteínas obtidas do DSHx – AP. Pode-se sugerir que a precipitação alcoólica tenha provocado desnaturação após a hidrólise sofrida na etapa de extração das proteínas. Os peptídeos de baixa massa molar possuem maior eficácia na diminuição da tensão interfacial facilitando a formação de interfaces água-óleo e ar-água. As proteínas, por sua vez, possuem adsorção limitada devido à sua conformação, apresentando menor eficiência na diminuição da tensão interfacial, quando comparada aos peptídeos de baixa massa molar. No entanto, as emulsões e espumas apresentam maior estabilidade (Moure et al., 2006).

A Tabela II.5 apresenta dados de comportamento térmico dos concentrados proteicos. As temperaturas de desnaturação $T_d 1$ variaram entre 118 e 124 °C enquanto os valores das temperaturas $T_d 2$ variaram entre 137 e 144 °C. Observa-se que as ΔH dos concentrados obtidos por precipitação alcoólica foram menores em relação aos concentrados obtidos por precipitação isoeletrica (Tabela II.4), indicando maior desnaturação das proteínas com AP. Os valores encontrados são maiores do que os reportados na literatura (COLOMBO; RIBOTTA; LEÓN, 2010; HE et al., 2014; ZHAO et al., 2011). He et al. (2014) e ZHAO et al. (2011) encontraram valores para $T_d 1$ entre 88 e 93,5 °C e $T_d 2$ entre 101,5 e 107,2 °C.

Tabela II.5. Temperatura e entalpia de desnaturação de concentrados proteicos de amendoim obtidos por diferentes precipitações.

	<i>Precipitação isoelétrica</i>		<i>Precipitação alcoólica</i>	
	<i>DSEt</i>	<i>DSHx</i>	<i>DSEt</i>	<i>DSHx</i>
T_d1 (°C)	124 ± 1 ^{A,a}	119 ± 4 ^{A,a}	122,1 ± 0,2 ^{B,a}	118 ± 3 ^{A,a}
<i>ΔH</i> 1 (J / g proteína)	1,1 ± 0,1 ^{A,a}	1,2 ± 0,2 ^{A,a}	0,3 ± 0,1 ^{B,b}	0,7 ± 0,4 ^{B,a}
T_d2 (°C)	144 ± 1 ^{A,a}	138 ± 1 ^{A,b}	140,07 ± 0,04 ^{B,a}	137 ± 1 ^{A,b}
<i>ΔH</i> 2 (J / g proteína)	5 ± 1 ^{A,a}	6,7 ± 0,4 ^{A,a}	2 ± 1 ^{B,a}	2 ± 1 ^{B,a}

Resultados expressos como média ± desvio padrão de 2 repetições. Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não indicam diferença significativa comparando a mesma precipitação para os diferentes DSs. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si comparando o mesmo DS para diferentes precipitações. Comparações realizadas ao nível de 95% de confiança pelo Teste de Duncan.

Fonte: própria autoria.

Segundo Colombo, Ribotta e León (2010) o teor de água pode influenciar a temperatura de desnaturação das proteínas. Quando a água disponível se encontra unida a proteína (primeira camada de hidratação) ou estruturada pela proteína (segunda camada de hidratação), há um aumento da temperatura de desnaturação. Devido ao alto teor de água (Tabela II.3) presente nos concentrados proteicos, mesmo após 96 h de liofilização, pode-se inferir que a água presente se encontra ligada à proteína. A associação desta água ligada e da água adicionada na preparação do material para a análise térmica, pode ter resultado em maior estabilidade térmica e, conseqüentemente, temperaturas de desnaturação mais elevadas (Tabela II.5).

Estudos que buscaram avaliar o comportamento endotérmico da proteína de amendoim relataram T_d da fração conaraquina na faixa de 88 a 95 °C e temperaturas entre 101 e 111 °C como T_d da fração araquina (COLOMBO; RIBOTTA; LEÓN, 2010; HE et al., 2014; ZHAO et al., 2011). Pode-se inferir que o primeiro pico endotérmico corresponda a desnaturação da fração conaraquina enquanto o segundo pico corresponda a fração araquina. Segundo Zhao *et al.* (2011), valores mais altos de T_d podem estar associados a maior estabilidade térmica da proteína globular.

II. 4. CONCLUSÕES

O teor de proteínas precipitadas a partir da adição de etanol foi semelhante ao obtido por precipitação isoelétrica, além de maior solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo para os concentrados obtidos a partir do sólido desengordurado com etanol. O estudo da cinética de precipitação com etanol demonstrou que maior tempo de agitação é necessário para promover a agregação das proteínas, porém os tempos de 60, 120 e 180 minutos não apresentaram diferença significativa, indicando que 60 minutos pode proporcionar completa precipitação.

A caracterização das proteínas e análise das funcionalidades demonstrou semelhança quanto à composição dos concentrados obtidos pelos diferentes métodos. No entanto, os concentrados proteicos obtidos da precipitação alcoólica apresentaram menor teor de compostos fenólicos, o que pode ser atribuído à possível extração pelo etanol. Quanto as propriedades funcionais, SDEt – PA apresentou alta solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão quando comparado aos produtos da precipitação isoelétrica. A capacidade de formação de espuma

foi melhorada, porém apresentou menor estabilidade. De forma geral, todos os concentrados apresentaram coloração avermelhada resultante do pH alcalino empregado na etapa de extração.

Com base nestes resultados, pode-se inferir que o etanol pode ser empregado como agente precipitante na obtenção de concentrados proteicos de amendoim, agregando valor ao grão e possibilitando produção de proteínas com boas propriedades funcionais. Para isso, processos de remoção de cor podem ser considerados a fim de ampliar a aplicação das proteínas em produtos alimentícios.

II. 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, S. et al. Physicochemical Characteristics, Functional Properties, and Nutritional Benefits of Peanut Oil: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 12, p. 1562–1575, 2014.

AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**; 3rd ed.; Champaign, 1998.

AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**; 6. Ed.; 2009.

AOAC. **Official Methods of Analysis**; 18th ed.; Washington, D. C, 2007.

AOAC. **Official Methods of Analysis**; 18th ed.; Maryland, USA, 2005.

ARTHUR JR, J. C. Peanut Protein Isolation, Composition, and Properties. **Advances in Protein Chemistry**, v. 8, p. 393–341, 1953.

ASEN, N. D.; BADAMASI, A. T.; GBORIGO, J. T.; ALUKO, R. E.; GIRGIH, A. T. Comparative Evaluation of the Antioxidant Properties of Whole Peanut Flour, Defatted Peanut Protein Meal, and Peanut Protein Concentrate. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 5, 2021.

BEUCHAT, L. R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 258 - 261, 1977. 42

BODOIRA, R.; CECILIA CITTADINI, M.; VELEZ, A.; ROSSI, Y.; MONTENEGRO, M.; MARTÍNEZ, M.; MAESTRI, D. An Overview on Extraction, Composition, Bioactivity and Food Applications of Peanut Phenolics. **Food Chemistry**, v. 381, p. 132250 – 132261, 2022.

BOHÓRQUEZ, M. A. M. **Avaliação do etanol como agente precipitante de glicosil hidrolases produzidas por *Trichoderma harzianum* P49P11**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

BOUKID, F. Peanut protein – an underutilised by-product with great potential: a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 9, p. 5585 – 5591, 2022.

CAPELLINI, M. C.; CHIAVOLONI, L.; GIACOMINI, V.; RODRIGUES, C. E. C. Alcoholic extraction of sesame seed cake oil: Influence of the process conditions on the physicochemical characteristics of the oil and defatted meal proteins. **Journal of Food Engineering**, v. 240, p. 145-152, 2019.

CHAKRABORTY, P. Coconut protein isolate by ultrafiltration. Em: LEMEGUER, M.; JELEN, P. (Eds.). **Food engineering and process applications**. New York: Elsevier Applied Science Publishers, v. 2, p. 308–315, 1986.

COLOMBO, A.; RIBOTTA, P. D.; LEÓN, A. E. Differential Scanning Calorimetry (DSC) Studies on the Thermal Properties of Peanut Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n.7, p. 4434 – 4439, 2010.

MORR, C. V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J. E.; REGENSTEINS, J. M.; VAN BUREN, J. M.; KILARA, A.; LEWIS, B. A.; MANGINO, M. E. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v.50, n.6, p.1715-1718, 1985.

GAYOL, M. F. et al. Optimization of the protein concentration process from residual peanut oil-cake. **Grasas y Aceites**, v. 64, n. 5, p. 489–496, out. 2013.

GHATAK, S. K.; SEN, K. Peanut proteins: Applications, ailments and possible remediation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 19, n. 2, p. 369 – 374, 2013.

HARIHARAN, S.; PATTI, A.; ARORA, A. Functional Proteins from Biovalorization of Peanut Meal: Advances in Process Technology and Applications. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 78, p. 13 – 24, 2023.

HE, X. H.; LIU, H. Z.; LIU, L.; ZHAO, G. L.; WANG, Q.; CHEN, Q. L. Effects of high pressure on the physicochemical and functional properties of peanut protein isolates. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 123–129, 2014.

JAMDAR, S. N.; RAJALAKSHMI, V.; PEDNEKAR, M. D.; JUAN, F.; YARDI, V.; SHARMA, A. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 178–184, 2010.

KANEKO, T.; ISHII, K. Separation of peanut protein by precipitation with acetone and ethanol and characterization of the protein isolates. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 27, n. 4, p. 199-204, 1980.

LAWAL, O. S.; ADEBOWALE, K. O.; ADEBOWALE, Y. A. Functional properties of native and chemically modified protein concentrates from bambarra groundnut. **Food Research International**, v. 40, n. 8, p. 1003–1011, out. 2007.

L'HOCINE, L.; BOYE, J. I.; ARCAND, Y. Composition and functional properties of soy protein isolates prepared using alternative defatting and extraction procedures. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 3, p. C137–C145, 2006.

LI, H.; LONG, D.; PENG, J.; MING, J.; ZHAO, G. A novel in-situ enhanced blasting extrusion technique - Extrudate analysis and optimization of processing conditions with okara. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 16, p. 80 – 88, 2012.

LIYANA-PATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 47–56, 2005.

McGUIRE, R.G. Reporting of Objective Color Measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992.

MOURE, A.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J. C. Functionality of oilseed protein products: A review. **Food Research International**, v. 39, n. 9, p. 945 – 963, 2006.

PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 716-723, 1978.

PINTON, S.; DIAS, F. F. G.; LERNO, L. A.; BARILE, D.; BELL, J. M. L. N. M. Revitalizing Unfermented Cabernet Sauvignon Pomace Using an Eco-Friendly, Two-Stage Countercurrent Process: Role of pH on the Extractability of Bioactive Phenolics. **Processes**, v. 10, n. 10, p. 2093 – 2114, 2022.

POJIĆ, M.; MIŠAN, A.; TIWARI, B. Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. **Trends in Food Science and Technology**, v. 75, p. 93 – 104, 2018.

PRIVATTI, R. T. **Recuperação de proteínas e isoflavonas para valorização do okara, coproduto da agroindústria do extrato hidrossolúvel de soja. 2023, 203 p.** Tese de doutorado, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

SEGATTO, L. M.; STAHL, A. M.; ZANOTTI, K.; ZUIN, V. G. Green and sustainable extraction of proteins from agro-industrial waste: an overview and a closer look to Latin America. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 37, p. 100661 – 100668, 2022.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA) – Foreign Agricultural Service. **Production, Supply and Distribution Online – Graphical Query: Stats By Commodity.** Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/statsByCommodity>>. Acesso em: 18/06/2023.

WANG, J.; WANG, J.; YE, J.; VANGA, S. K.; RAGHAVAN, V. Influence of high-intensity ultrasound on bioactive compounds of strawberry juice: Profiles of ascorbic acid, phenolics, antioxidant activity and microstructure. **Food Control**, v. 96, p. 128–136, 2019.

WU, H.; WANG, Q.; MA, T.; REN, J. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. **Food Research International**, v. 42, n. 3, p. 343–348, 2009.

YADAV, R. B.; YADAV, B. S.; CHAUDHARY, D. Extraction, characterization and utilization of rice bran protein concentrate for biscuit making. **British Food Journal**, v. 113, n. 9, p. 1173–1182, 2011.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. **Food Chemistry**, v. 103, n. 1, p. 121–129, 2007.

ZHANG, L.; SONG, C.; CHANG, J.; WANG, Z.; MENG, X. Optimization of protein hydrolysates production from defatted peanut meal based on physicochemical characteristics and sensory analysis. **LWT**, v. 163, 15 jun. 2022.

ZHAO, G.; LIU, Y.; ZHAO, M.; REN, J.; YANG, B. Enzymatic hydrolysis and their effects on conformational and functional properties of peanut protein isolate. **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1438–1443, 2011.

4. CONCLUSÕES GERAIS

O uso do etanol para extração de óleo residual de torta de prensagem de grãos de amendoim apresentou capacidade de extração similar ao hexano, no entanto, as condições de extração considerando a configuração múltiplos estágios em correntes cruzadas foram distintas, necessitando de temperatura mais elevada (75 °C), maior quantidade de solvente (sólido/solvente de 1/5) e 3 estágios de contato, enquanto para o Hx foram empregados temperatura de 55 °C, razão sólido/solvente de 1/4 e 2 estágios de contato.

O óleo obtido com solvente renovável apresentou composição, em termos de ácidos graxos e triacilgliceróis, semelhante ao óleo extraído por prensagem a frio e ao óleo obtido com o solvente tradicionalmente empregado na indústria (hexano), com valores similares de densidade, viscosidade e índice de refração. A extração de óleo de amendoim por solventes onera a etapa de refino, principalmente com o emprego do etanol, uma vez que este resulta em óleo com maior acidez e cor mais acentuada.

Os sólidos desengordurados decorrentes das extrações com etanol e hexano apresentaram alto teor proteico (> 45% em massa) e alta solubilidade de nitrogênio (> 80%), podendo ser utilizados para obtenção de proteínas.

Foram testadas diferentes condições de extração das proteínas, sob pH 6,0 ou 9,0 e temperaturas de 25, 50 e 75 °C. Para a melhor condição de extração, estipulada com base no rendimento de extração e proteínas e funcionalidades (pH 9,0 e 75 °C) foram estudados diferentes métodos de precipitação das proteínas contidas na fase extrato (precipitação isoelétrica, precipitação com etanol em diferentes configurações, neutralização antes ou após a adição do etanol e concentração do extrato via rotaevaporação). O emprego do etanol na etapa de precipitação proteica possibilitou teor de proteínas semelhante ao obtido por precipitação isoelétrica.

A análise das propriedades funcionais demonstrou que o emprego do etanol na etapa de extração de óleo e, posteriormente, na precipitação de proteínas pode proporcionar alta solubilidade, capacidade de absorção de água e óleo, capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão quando comparado aos produtos da precipitação isoelétrica. O método de extração em pH alcalino proporcionou coloração avermelhada as proteínas, atribuída a hidroxilação do anel aromático presente nos compostos fenólicos.

Com base nestes resultados, pode-se inferir que o etanol pode vir a substituir o hexano assim como uso de ácidos empregados na obtenção de concentrados proteicos de amendoim através da precipitação isoelétrica. Para isso, estudos futuros são necessários

para que se possa avaliar processos de remoção de cor dos concentrados proteicos a fim de ampliar a aplicação das proteínas em produtos alimentícios, além de estudo econômico visando averiguar o impacto do uso do etanol nos custos de produção.

5. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

De forma a complementar este trabalho, visando o melhor aproveitamento da torta de prensagem de amendoim, pode-se sugerir trabalhos futuros nas seguintes vertentes:

- Novos métodos de extração e precipitação de proteínas visando preservar suas estruturas;
- Avaliar a alergenicidade das proteínas obtidas por precipitação alcoólica;
- Estudar a possível aplicação dos concentrados proteicos de amendoim em produtos alimentícios.