



**Ana Luísa Carvalho
Magalhães**

**Extracção de Óleo de Grainha de Uva com CO₂
Supercrítico**



**Ana Luísa Carvalho
Magalhães**

**Extracção de Óleo de Grainha de Uva com CO₂
Supercrítico**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Carlos Manuel Santos Silva, Professor Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, e do Doutor Manuel António Coimbra Rodrigues da Silva, Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho aos meus queridos pais.

“Age de modo que consideres a humanidade tanto na tua pessoa quanto na de qualquer outro, e sempre como objectivo, nunca como simples meio.”
(Immanuel Kant)

O júri

Presidente

Prof^a. Doutora Maria Inês Purcell de Portugal Branco
Professora Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof^a. Doutora Maria Alice Zarur Coelho
Professora Associada Nível 1 da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Doutor Manuel António Coimbra Rodrigues da Silva
Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Carlos Manuel Santos Silva
Professor Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais a vida, a educação, os valores que me transmitiram desde sempre e todo o apoio que sempre me deram e continuarão a dar. Sem vocês nada disto seria realizável! Agradeço também ao professor Carlos Silva todo o apoio e ajuda que me foi dando durante todo o trabalho e fora deste. Em si vejo uma pessoa que muito admiro e com quem gosto imenso de trabalhar. Não poderia deixar de agradecer à Engenheira Cláudia Passos (a minha "Chefinha") por me ter ajudado imenso ao longo do trabalho e por ter conseguido fazer com que eu passasse a gostar de trabalhar no laboratório. Um agradecimento especial ao professor Manuel António Coimbra. Ao professor Jorge Saraiva agradeço a ajuda e o apoio que me deu com a parte da alta pressão. Ao Joeli Munoz um muito obrigada pelo tempo dispendido comigo no equipamento da alta pressão. A Patrícia Lito, o Rui Silva, o Professor Avelino são eles também pessoas muito especiais e com quem tive o privilégio de conviver. Um muito obrigada aqui fica para vocês! A todos os meus Amigos, em especial a Andreia Pinto, por todo o apoio e dedicação que teve para comigo. Não esquecerei nunca os nossos momentos amiga! Todas as pessoas que pela minha vida têm passado, mesmo que de uma forma súbita e sem relativa importância, até a essas eu agradeço, pois o meu percurso só tem significado porque o vosso caminho se cruzou com o meu...

Resumo

Esta dissertação de mestrado integrado teve como principal objectivo a extracção de óleo de grainha de uva com dióxido de carbono supercrítico, tendo-se medido o rendimento da separação e avaliado a qualidade do óleo obtido em termos de composição e concentração em triacilglicerídeos. Para além disso, com o intuito de aumentar o rendimento da extracção, foram realizados ensaios com a semente previamente tratada a pressão elevada. A modelação dos dados experimentais foi também efectuada.

Para dar cumprimento aos objectivos citados, delineou-se o seguinte programa de trabalhos: (i) obter e preparar a semente (i.e., separação do mosto, lavagem, secagem, moagem e classificação por tamanhos); (ii) submeter a grainha a tratamentos a pressão elevada (HPP) e medir o rendimento da extracção via Soxhlet com *n*-hexano; (iii) efectuar a extracção supercrítica (SFE) do óleo de grainha de uva, utilizando amostras tratadas e não-tratadas a pressão elevada; (iv) determinar o perfil de triacilglicerídeos do óleo extraído por cromatografia em fase gasosa; (v) modelar os resultados experimentais.

Primeiramente estudou-se o efeito da granulometria da semente moída no rendimento da extracção, tendo-se confirmado que é uma variável fundamental do processo: $\eta(d_p = 0.75 \text{ mm}) = 11.59\%$ e $\eta(d_p = 0.85 \text{ mm}) = 6.72\%$. Das experiências de HPP concluiu-se que o rendimento final da extracção não é sensivelmente alterado para tratamentos até 3000 bar; a 5000 bar registou-se uma redução de 6.7% no valor de η_{final} .

As extracções supercríticas realizadas a 40 °C e 180 bar com amostras de grainha tratada e não tratada a pressão elevada deram origem a rendimentos equivalentes aos do Soxhlet com *n*-hexano. Este facto mostrou que a SFE é um processo eficaz.

As curvas cumulativas de extracção medidas com as duas amostras apresentaram os dois períodos típicos de extracção: no primeiro deles, aproximadamente linear, extraiu-se 90-92% do óleo disponível; o segundo, menos importante, atinge rapidamente um patamar. Comparando os primeiros períodos de extracção das duas SFE realizadas, constatou-se que a experiência conduzida com grainha pré-tratada a 1000 bar exibiu uma taxa de extracção 39.7% superior. Este facto permitiu concluir que, embora o HPP não afecte o rendimento final da extracção, a velocidade do processo é significativamente melhorada, permitindo reduzir o tempo necessário para remover a mesma quantidade de óleo.

No que concerne à qualidade do óleo extraído, as análises mostraram que ele contém mais de 92% de triacilglicerídeos e que é particularmente rico em ácidos gordos insaturados (~80%), sendo os ácidos oleico (C18:1) e linoleico (C18:2) os mais abundantes (17-24% e 60-66%, respectivamente).

A modelação da extracção supercrítica foi feita com base nos trabalhos de Perrut et al. (1997) e Sovová (2005). O modelo ajustou muito bem os dados experimentais, obtendo-se os erros absolutos médios seguintes: $AAD(c/HPP)=2.36\%$ e $AAD(s/HPP)=2.72\%$. Com o modelo determinaram-se os perfis de concentração de óleo no leite e as curvas de eluição, a partir dos quais se calcularam os parâmetros fundamentais do processo. A zona de transferência de massa do leite, definida pelos limites de 5% e 95% da concentração máxima, corresponde a 7.2% (s/HPP) e a ~4.9% (c/HPP) do seu comprimento total. As velocidades de propagação das ondas de concentração através do leite foram 96 e 35 vezes superiores ao tempo de passagem do CO₂.

Abstract

The main objective of this dissertation was the supercritical fluid extraction of grape seed oil using carbon dioxide, where the separation yield has been measured and the oil quality has been evaluated in terms of the composition and concentration of triacylglycerides. Furthermore, in order to increase the extraction yield, assays with pre-treated seed at high pressure have been carried out.

With the purpose of accomplishing the cited objectives, the following working programme was established: (i) to obtain and prepare the seed (separation from musts, washing, drying, milling and classification); (ii) to carry out high pressure treatments (HPP) and measured the extraction yield via Soxhlet with *n*-hexane; (iii) to perform the supercritical fluid extraction (SFE) of the grape seed oil, using treated and untreated samples; (iv) to determine the triacylglycerides profile of the extracted oil by gas chromatography; (v) to model the experimental results.

Firstly, the effect of the milled seed granulometry upon extraction yield has been studied, being confirmed that it is a fundamental process variable: $\eta(d_p = 0.75 \text{ mm}) = 11.59\%$ and $\eta(d_p = 0.85 \text{ mm}) = 6.72\%$. From HPP experiments one concluded the final yield is not affected by treatments up to 3000 bar; at 5000 bar, η_{final} was reduced by 6.7%.

The supercritical fluid extractions carried out at 40 °C and 180 bar with treated and untreated seed gave rise to yields equivalent to those obtained by Soxhlet using *n*-hexane, which proves the SFE is an efficient process.

The cumulative extraction curves for both samples presented the two typical extraction periods: in the first one, approximately linear, it has been removed 90-92% of the available oil; the second, less important, reached a plateau rapidly. Comparing the first extraction periods of both SFEs performed, one concluded that the extraction rate for treated seed was 39.7% higher. Such fact allowed us to conclude that, although HPP does not influence final yield, the rate of the process is significantly improved, reducing the time needed to remove a fixed quantity of oil.

With respect to the oil quality, the analysis showed it contains more than 92% of triacylglycerides and that it is particularly rich in unsaturated fatty acids (~80%), where

oleic (C18:1) and linoleic (C18:2) acids are the most abundant (17-24% and 60-66%, respectively).

Modelling has been performed on the basis of the works published by Perrut et al. (1997) and Sovová (2005). The model fitted data very well, giving rise to the following absolute average deviations: $AAD(HPP)=2.36\%$ e $AAD(\text{no HPP})=2.72\%$. With this model the concentration profiles in the bed and the breakthrough curves were determined, and the chief process parameters calculated. The mass transfer zone, defined using the limits of 5% and 95% of the maximum concentration, corresponds to 7.2% (no HPP) and ~4.9% (HPP) of the bed length. The velocities of the concentration waves through the bed were 96 and 35 times higher than the space time of CO_2 .

ÍNDICE

Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	iv
Nomenclatura.....	v
I. INTRODUÇÃO	1
I.1. Fluidos supercríticos	1
I.2. Aplicações dos fluidos supercríticos	4
I.3. Óleos e gorduras vegetais.....	6
I.4. Óleo de grainha de uva.....	7
II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	11
II.1. Processamento a pressão elevada (HPP)	11
II.2. Extracção supercrítica (SFE)	13
II.3. Modelação da unidade de extracção supercrítica.....	15
III. PARTE EXPERIMENTAL	23
III.1. Processamento da grainha de uva.....	23
III.2. Tratamento a pressão elevada (HPP).....	25
III.3. Extracção convencional em Soxhlet.....	26
III.4. Extracção supercrítica (SFE)	26
III.5 Determinação do perfil de triacilglicerídeos do óleo extraído	29
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
IV.1. Importância do diâmetro médio de partícula sobre o rendimento da extracção.....	33
IV.2. Influência dos tratamentos a pressão elevada sobre o rendimento da extracção....	34
IV.3. Extracção supercrítica do óleo de grainha de uva	36
IV.4. Determinação do perfil de triacilglicerídeos do óleo extraído	42
V. CONCLUSÕES.....	47
VI. BIBLIOGRAFIA.....	49
VII. APÊNDICE	Erro! Marcador não definido.

Lista de Figuras

Figura 1. Diagrama de fases de uma substância	1
Figura 2. Evolução do menisco líquido-vapor ao longo da curva de vaporização de uma substância até atingir o seu ponto crítico	2
Figura 3. Isotérmicas da massa volúmica do CO ₂ em função da pressão, em torno do ponto crítico	3
Figura 4. Cacho de uvas de casta tinta	8
Figura 5. Variação da solubilidade de óleos vegetais em função da pressão para duas temperaturas diferentes, calculada pela equação de Valle e Aguilera (1988)	14
Figura 6. Exemplo típico de uma curva de extracção de óleos de sementes	15
Figura 7. Curva de equilíbrio de solubilidade de óleos de sementes em CO ₂ supercrítico segundo Perrut et al. (1997)	17
Figura 8. Esquema simplificado do transporte de massa em série numa partícula de semente moída, segundo a abordagem de Sovová (2005)	18
Figura 9. (a) Lavagem da grainha; (b) Grainha húmida; (c) Grainha seca final	24
Figura 10. (a) Moinho doméstico de café; (b) Classificador de peneiros	24
Figura 11. (a) Equipamento utilizado no tratamento de pressão elevada (Unipress Equipment, Model U33); (b) saco com a amostra de grainha em água antes do tratamento; (c) amostra tratada e já liofilizada	25
Figura 12. Instalação utilizada para as extracções em Soxhlet	26
Figura 13. Esquema simplificado da instalação de extracção supercrítica	28
Figura 14. Fotografia da estufa onde se encontra o extractor supercrítico (à esquerda) e o FPR2 (à direita)	29
Figura 15. Cromatógrafo de gás (Perkin Elmer Clarus 400)	30
Figura 16. Programa de temperaturas do forno	31
Figura 17. Rendimento de extracção em função do diâmetro médio de partícula de grainha moída	34
Figura 18. Rendimento de extracção em função da pressão aplicada durante os ensaios de HPP	35
Figura 19. Curvas cumulativas de extracção supercrítica do óleo de grainha de uva obtidas a 180 bar e 40 °C para amostras com e sem HPP	37
Figura 20. Perfis normalizados de concentração de óleo na fase fluida do leito para a SFE de grainha não tratada	40
Figura 21. Perfis normalizados de concentração de óleo na fase fluida do leito para a SFE de grainha pré-tratada	41
Figura 22. Curva de eluição para a SFE de grainha sem tratamento	42
Figura 23. Cromatograma de uma amostra óleo de grainha de uva extraído via Soxhlet, em que a grainha foi sujeita a HPP, analisado por GC-FID. (1 - Ácido palmítico, 2 - Ácido palmitoleico, 3 - Ácido margárico (Padrão Interno), 4 - Ácido esteárico, 5 - Ácido oleico, 6 - Ácido linoleico, 7 - Ácido linolénico	43

Figura 24. Percentagens de ácidos gordos identificados como ésteres metílicos dos triacilglicerídeos dos diferentes óleos de grainha de uva, obtidos por transesterificação	45
--	----

Lista de Tabelas

Tabela 1. Comparação entre valores típicos de algumas propriedades físicas de fluidos nos estados gasoso, supercrítico e líquido	3
Tabela 2. Valores de temperatura e pressão críticas de várias substâncias	4
Tabela 3. Ácidos gordos mais importantes	7
Tabela 4. Composição típica do óleo de grainha de uva em ácidos gordos	9
Tabela 5. Equações do modelo de SFE adimensionalizadas	21
Tabela 6. Equações discretizadas do modelo de SFE adimensionalizado	22
Tabela 7. Condições de operação e propriedades do sistema para as experiências de SFE realizadas, juntamente com os parâmetros otimizados do modelo	38
Tabela 8. Tempos de retenção para os diferentes ésteres metílicos dos ácidos gordos transesterificados	43
Tabela 9. Percentagens de triacilglicerídeos totais presentes nas diferentes amostras de óleo de grainha de uva estudadas	44
Tabela A.1. Distribuição do tamanho de partícula das amostras de grainha de uva moída correspondentes a um valor médio de 0.75 mm	53
Tabela A.2. Distribuição do tamanho de partícula das amostras de grainha de uva moída correspondentes a um valor médio de 0.85 mm	54
Tabela A.3. Curva de extracção supercrítica para a amostra de grainha de 0.75 mm	54
Tabela A.4. Curva de extracção supercrítica para a amostra de grainha de 0.85 mm	54
Tabela A.5. Resultados da extracção em Soxhlet (20 h com <i>n</i> -hexano)	54
Tabela A.6. Resultados da extracção em Soxhlet (4 h com <i>n</i> -hexano)	55
Tabela A.7. Resultados obtidos da análise GC-FID	56
Tabela A.8. Dados referentes à amostra de óleo e de Padrão Interno usado nas análises em GC-FID	56

Nomenclatura

a_s	Área interfacial entre as regiões de células intactas e rompidas (m^{-1})
a_0	Área interfacial fluido-sólido por unidade de volume de leito (m^{-1})
AAD	Média dos desvios absolutos percentuais (%)
CLA	Ácido linoleico conjugado
d_p	Diâmetro média de partícula (mm; m)
D_i	Diâmetro interno do extractor (m)
$E(t)$	Massa de óleo recolhida até ao instante t (kg)
FPR	<i>Forward pressure regulator</i>
FSC	Fluido supercrítico
h	Posição axial do leito (m)
H	Comprimento do extractor (m)
HPP	Processamento a pressão elevada
j_f	Fluxo volumétrico de soluto das células rompidas para o fluido ($\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{min}$)
j_s	Fluxo volumétrico de soluto das células intactas para as rompidas ($\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{min}$)
J_f	Fluxo volumétrico adimensional de soluto das células rompidas para o fluido
J_s	Fluxo volumétrico adimensional de soluto das células intactas para as rompidas
k_f	Coefficiente de transferência de massa por convecção no filme (m/min)
k_s	Coefficiente de transferência de massa na partícula (m/min)
K	Constante de partição de equilíbrio
\bar{K}	Constante de partição de equilíbrio adimensionalizado
\dot{m}	Caudal mássico de solvente (kg/min)
m_{grainha}	Massa de grainha (kg, g)
$m_{\text{grainha seca}}$	Massa de grainha seca (g)

$m_{\text{óleo}}$	Massa de óleo extraído (g)
P	Pressão (bar)
P_c	Pressão crítica (bar)
PC	Ponto crítico
r	Fracção em volume de células rompidas
$Re_{\text{superficial}}$	Número de Reynolds superficial
SFE	Extracção supercrítica
t	Tempo de extracção (min)
$t_{\text{estequiométrico}}$	Tempo estequiométrico (min)
t_r	Tempo passagem do solvente (min)
T	Temperatura (°C, K)
T_c	Temperatura crítica (°C)
U_i	Velocidade intersticial (m/min)
U_0	Velocidade superficial (m/min)
V_{grainha}	Volume de grainha (m ³)
x_t	Concentração de transição (kg óleo/kg sólido insolúvel)
x_u	Concentração no sólido não tratado (kg óleo/kg sólido insolúvel)
x_1	Concentração nas células rompidas (kg óleo/kg sólido insolúvel)
$x_{1,0}$	Concentração inicial nas células rompidas (kg óleo/kg sólido insolúvel)
x_2	Concentração nas células intactas (kg óleo/kg sólido insolúvel)
$x_{2,0}$	Concentração inicial nas células intactas (kg óleo/kg sólido insolúvel)
X_t	Concentração de transição adimensional
X_1	Concentração nas células rompidas adimensional
X_2	Concentração nas células intactas adimensional
y	Concentração da fase fluida (kg óleo/kg solvente)
$\bar{y}(h=H)$	Composição média do efluente do extractor (kg óleo/kg solvente)
y_s	Solubilidade do óleo no CO ₂ (kg óleo/m ³ solvente; kg óleo/kg solvente)

y_0	Concentração inicial da fase fluida (kg óleo/kg solvente)
y^*	Concentração de equilíbrio da fase fluida (kg óleo/kg solvente)
Y	Concentração da fase fluida adimensional
Y_s	Solubilidade do óleo no CO ₂ adimensional
Y^*	Concentração de equilíbrio da fase fluida adimensional
z	Coordenada axial do leito adimensionalizada
ZTM	Zona de transferência de massa

Letras Gregas

γ	Razão entre as massas de fluido e de sólido insolúvel no leito (kg fluido/kg sólido insolúvel)
Γ	Distribuição inicial do óleo entre o fluido e as células rompidas
ε	Porosidade do leito
η	Rendimento de extração (% , kg óleo / 100 kg grainha)
η_{Soxhlet}	Rendimento extração obtido em Soxhlet (% , kg óleo / 100 kg grainha)
η_{SFE}	Rendimento final da SFE (% , kg óleo / 100 kg grainha)
Θ_e	Resistência externa à transferência de massa adimensionalizada
Θ_i	Resistência interna à transferência de massa adimensionalizada
μ	Viscosidade do CO ₂ (kg/m.min)
ρ_f	Massa volúmica do fluido (kg.m ⁻³)
ρ_{leito}	Massa volúmica aparente do leito (kg.m ⁻³)
ρ_s	Massa volúmica da fase sólida insolúvel (kg sólido insolúvel/m ³ sólido)
σ	Desvio padrão
τ	Tempo adimensional
Φ	Rendimento de extração adimensionalizado

I. INTRODUÇÃO

Este capítulo começa com uma introdução aos fluidos supercríticos e às suas principais aplicações. Segue-se uma secção sobre óleos e gorduras vegetais e termina especificamente com o óleo de grainha de uva, uma vez que é o objecto de estudo desta dissertação.

I.1. Fluidos supercríticos

Uma substância que se encontra a uma temperatura e pressão acima dos seus valores críticos (T_c e P_c , respectivamente) designa-se por *fluido supercrítico* (FSC). Acima deste ponto não existe equilíbrio líquido-vapor (Figura 1).

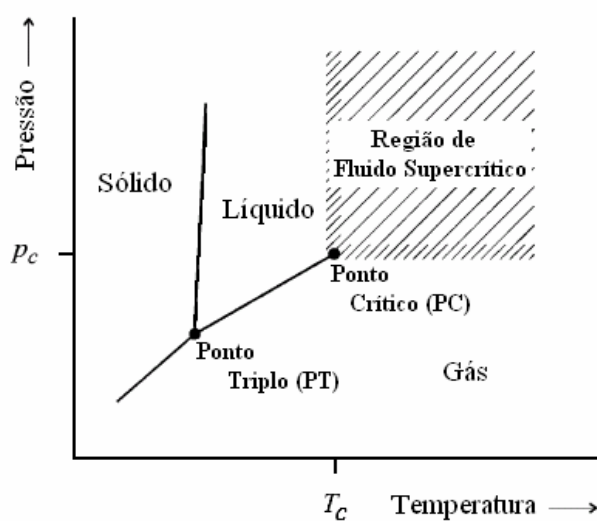


Figura 1. Diagrama de fases de uma substância.

A primeira observação experimental da existência do ponto crítico deve-se a Cagniard de la Tour (1822). A Figura 2 ilustra uma versão moderna das suas experiências, em que estão registados quatro instantes do percurso ao longo da linha de vaporização: na primeira fotografia, a temperatura é inferior à crítica e pode observar-se o menisco de separação entre as fases líquida e gasosa, bem definido; com o aumento da temperatura o menisco começa a tornar-se menos nítido (segunda e terceira fotografias); por fim, acima da temperatura crítica, é possível distinguir-se apenas uma única fase, designada de supercrítica (Brunner, 2005; LCSG, 2007).

Na Tabela 1 apresentam-se valores típicos de massa volúmica, viscosidade e difusividade para os estados gasoso, supercrítico e líquido. Na generalidade, as propriedades físicas e de transporte de um FSC assumem valores intermédios entre as dos estados líquido e vapor (Rizvi et al., 1986; Ponte, 1995; Brunner, 2005).

Da Tabela 1 observa-se que os FSC's possuem densidades próximas das dos líquidos, o que lhes confere, em princípio, um bom comportamento solvente. A viscosidade dos FSC's é por seu lado idêntica à dos gases, o que permite realizar cromatografia supercrítica (SFC) com perdas de carga muito inferiores às que se obtêm em cromatografia líquida de elevada eficiência (HPLC). A ordem de grandeza das difusividades em FSC's, intermédia entre os valores para líquidos e gases, permite inferir que reacções químicas não-homogéneas controladas por difusão poderão ocorrer a velocidades superiores se forem conduzidas em meio supercrítico (Rizvi et al., 1986).

O poder solvente de um FSC pode variar significativamente com as condições de operação, podendo manipular-se para tomar valores característicos de gases até líquidos. Quando se caminha em direcção ao ponto crítico, as densidades das fases líquida e de vapor em equilíbrio tendem a tornar-se indistinguíveis, igualando-se nesse mesmo ponto.

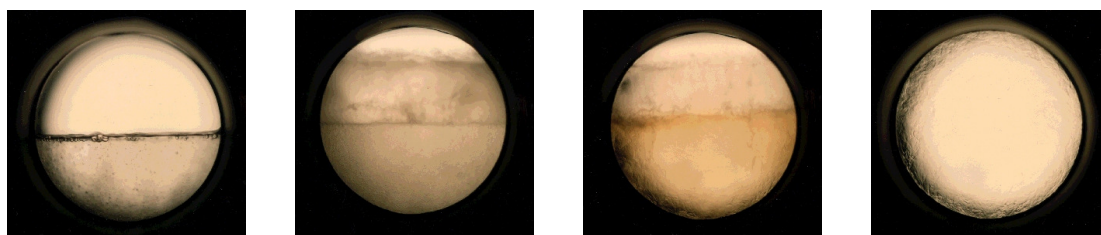


Figura 2. Evolução do menisco líquido-vapor ao longo da curva de vaporização de uma substância até atingir o seu ponto crítico (LCSG, 2007).

Tabela 1. Comparação entre valores típicos de algumas propriedades físicas de fluidos nos estados gasoso, supercrítico e líquido (Rizvi et al., 1986; Brunner, 2005).

Estado físico	Massa volúmica (kg/m ³)	Viscosidade (10 ³ ×Pa.s)	Difusividade (m ² /s)
Gás 1 bar, 20 °C	0.6 – 2.0	0.01 – 0.03	$(1 - 4) \times 10^{-5}$
FSC T_c, P_c $T_c, 4 \times P_c$	200 – 500 400- 900	0.01 – 0.03 0.03 – 0.09	7×10^{-7} 2×10^{-7}
Líquido 20 °C	600 – 1600	0.2 – 3.0	$(0.2 - 2.0) \times 10^{-9}$

Abaixo do ponto crítico, a densidade exibe uma descontinuidade de salto na transição líquido-vapor. A evolução da massa volúmica do dióxido de carbono (CO₂), em função da pressão e da temperatura, encontra-se representada na Figura 3. A figura mostra que no ponto crítico (PC) a variação da densidade com a pressão é infinita, situação confirmada pela existência de uma tangente vertical ao gráfico nesse ponto. Assim, pequenas variações de pressão junto de PC provocam grandes variações na densidade e consequentemente na sua capacidade solvente (Ponte, 1995; Marr e Gamse, 2000; Brunner, 2005). A temperaturas ligeiramente superiores à crítica verifica-se que a compressibilidade não é infinita, embora permaneça muito elevada. Com uma pequena variação da pressão, podemos passar das densidades típicas de líquidos para valores muito inferiores característicos de gases (Brunner, 1994; Ponte, 1995; Marr e Gamse, 2000).

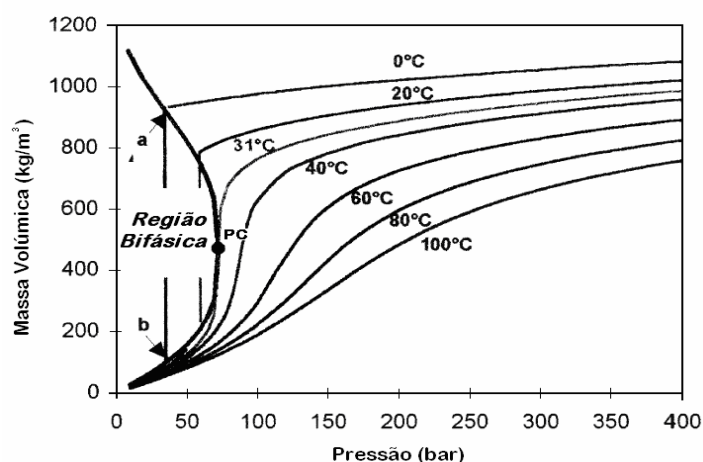


Figura 3. Isotérmicas da massa volúmica do CO₂ em função da pressão, em torno do ponto crítico (adaptado de Marr e Gamse (2000)).

Na Tabela 2 apresentam-se os valores das temperaturas e pressões críticas de algumas substâncias. Uma especial atenção tem sido dada ao CO₂, que é sem dúvida o fluido mais utilizado no estado supercrítico. Comparado com outras substâncias, o CO₂ apresenta uma temperatura crítica próxima da temperatura ambiente ($T_c = 30.95\text{ °C}$) e uma pressão crítica relativamente baixa ($P_c = 73.8\text{ bar}$). Para além disso, é abundante, relativamente barato, inerte, não inflamável, não tóxico, não explosivo, inodoro, incolor e, quando usado como solvente, não deixa resíduos nos extractos obtidos (Reverchon et al., 1993; Tonthubthimthong et al., 2001; Brunner, 2005).

Tabela 2. Valores de temperatura e pressão críticas de várias substâncias (Reid et al., 1988).

Substância	T_c (°C)	P_c (bar)
Azoto (N ₂)	-147.05	33.94
Oxigénio (O ₂)	-118.57	50.43
Dióxido de Carbono (CO ₂)	30.95	73.8
Água (H ₂ O)	373.98	220.55
Eteno (C ₂ H ₄)	9.21	50.32
Etano (C ₂ H ₆)	32.27	48.80
Propano (C ₃ H ₈)	96.67	42.49
<i>n</i> -Butano (C ₄ H ₁₀)	152.03	37.97
Etanol (CH ₃ CH ₂ OH)	243.10	63.84
Benzeno (C ₆ H ₆)	289.01	48.98

I.2. Aplicações dos fluidos supercríticos

A utilização de fluidos no estado supercrítico é uma área de investigação que continua a atrair um grande número de investigadores. O seu comportamento atípico e peculiar na vizinhança do ponto crítico projecta e eleva o seu interesse em diferentes áreas, como a das

reações químicas, dos processos de separação por fraccionamento, extracção, cromatografia e cristalização (Ponte, 1995; Azevedo, 2005; LCSG, 2007).

Grandes avanços foram e continuam a ser desenvolvidos em tecnologia supercrítica, nomeadamente na sua aplicação à síntese química, incluindo reações catalíticas, em reacções de oxidação onde o FSC substitui vantajosamente solventes tradicionais, em processamento de polímeros, em reacções enzimáticas, etc (Russel e Beckman, 1991; Azevedo, 2005).

Como se pode ver da Tabela 2, algumas substâncias possuem uma T_c relativamente baixa e próxima da temperatura ambiente, podendo ser utilizadas com vantagem como solventes na extracção supercrítica (SFE) de compostos termodegradáveis (Gomez et al., 1996; Cao e Ito, 2003; Reverchon e De Marco, 2006). Outro aspecto positivo da SFE é a possibilidade de obter produtos virtualmente limpos de quaisquer resíduos de solvente. Indústrias como a farmacêutica, a cosmética e a alimentar são áreas potenciais de aplicação da SFE (Rizvi et al., 1986; Gomez et al., 1996; Brunner, 2005; Reverchon e De Marco, 2006; Fiori, 2007). Comparando a utilização de solventes orgânicos em extracções a partir de matrizes sólidas porosas, os FSC's, por possuírem uma tensão superficial praticamente nula (típico dos gases), apresentam uma vantagem face aos anteriores. Esta característica permite ao solvente penetrar com relativa facilidade nas partículas sólidas, tenham elas uma estrutura macro, meso ou microporosa.

Se a um FSC se adicionar uma pequena quantidade (0.1-5% v/v) de um cossolvente ou modificador polar, as suas potencialidades podem ser significativamente ampliadas. Os cossolventes (por ex., metanol, etanol, acetona) possuem parâmetros de solubilidade superiores ao do FSC (muito frequentemente o CO_2), pelo que a mistura solvente consegue aumentar o rendimento de extracção e assim diminuir a pressão de operação ou o caudal de FSC necessário (Dobs et al., 1987; Temelli, 1992).

A rápida expansão de soluções supercríticas constitui a base de uma técnica que permite a produção de pequenas partículas sólidas (p. ex. produtos farmacêuticos) com uma distribuição uniforme, e que se tem vindo a impor como uma técnica alternativa de interesse e promissora aos métodos convencionais de cristalização. A base desta técnica é o facto de a solução supercrítica sofrer uma brusca expansão ($<10^{-5}$ s), ocorrendo desta forma um aumento da sobressaturação, que conduz à precipitação do soluto sob a forma de

partículas muito finas e pequenas e com uma reduzida distribuição de tamanhos (Debenedetti et al., 1992; Azevedo, 2005).

I.3. Óleos e gorduras vegetais

Os óleos e as gorduras fazem parte de qualquer forma de vida animal e vegetal. No entanto, a quantidade de plantas e animais que as produzem em quantidade suficiente para se poder comercializar é muito reduzida (O'Brien, 1998; Belitz e Grosch, 1999; ISEO, 2006). A utilização dos óleos provenientes de frutos e sementes de oleaginosas tem vindo a crescer ao longo dos anos, nomeadamente para usos culinários. O teor de óleo vegetal, numa semente, pode variar entre 3 a 70% do seu peso seco total (Langstraat, 1976).

Quimicamente, os óleos e as gorduras são quase exclusivamente triacilglicerídeos, que são derivados de ácidos gordos esterificados com o glicerol. Deste grupo podem fazer parte mono- e diglicerídeos, ácidos gordos livres, fosfatídeos, esteróis e compostos fenólicos (Belitz e Grosch, 1999; ISEO, 2006).

A distinção entre óleos e gorduras é de natureza física: os primeiros são líquidos à temperatura ambiente e as gorduras são sólidas (O'Brien, 1998; Belitz e Grosch, 1999; ISEO, 2006). Regra geral, as gorduras são constituídas predominantemente por ésteres de ácidos gordos saturados, enquanto os óleos contêm um elevado teor em ésteres de ácidos gordos insaturados.

As cadeias dos ácidos gordos que ocorrem nas gorduras e óleos alimentares possuem geralmente 4 a 24 carbonos, podendo incluir até quatro ligações duplas. A notação utilizada frequentemente para os representar é $C_n:p$, em que n é o número de átomos de carbono da cadeia principal e p o número de ligações duplas (i.e., ou número de insaturações) (O'Brien, 1998; Belitz e Grosch, 1999; ISEO, 2006). Os nomes e a estrutura dos ácidos gordos mais importantes encontram-se na Tabela 3. Os mais abundantes nos alimentos são os ácidos mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolénico (Belitz e Grosch, 1999; ISEO, 2006).

A variação da composição e da concentração dos óleos e gorduras naturais em ácidos gordos confere-lhes propriedades diferentes. No caso de produtos de origem vegetal, o tipo de planta, as condições climáticas, a estação de crescimento, o tipo de solo e

a maturidade, saúde e variação genética que a planta pode ter, são factores determinantes (Belitz e Grosch, 1999; Cook, 2007).

I.4. Óleo de grainha de uva

As uvas (*Vitis vinifera* L.) (Figura 4) têm tido desde sempre inúmeras aplicações, sendo que a principal reside na produção de vinho. Outras utilizações têm vindo a ganhar importância, nomeadamente a extracção de compostos provenientes das suas peles e sementes (grainhas), destinados a diferentes áreas como, por exemplo, a farmacêutica, medicinal, cosmética e alimentar (Cao e Ito, 2003; Luque-Rodríguez et al., 2005; Bail et al., 2007; Fiori, 2007). A produção de uvas localiza-se geralmente em zonas de climas quentes moderados, p. ex. em Itália, França, Espanha, Portugal, EUA e também na China (Bail et al., 2007). Em Portugal, a produção e comercialização de produtos de origem vinícola contribuem indubitavelmente para a nossa economia.

A grainha de uva constitui aproximadamente 15% dos resíduos sólidos oriundos da indústria vinícola. Apesar de ser uma excelente fonte de óleo para consumo humano, regra geral é queimada ou usada na produção de alimentos para gado (Rao, 1994; Gomez et al., 1996; Luque-Rodríguez et al., 2005; Bail et al., 2007).

Tabela 3. Ácidos gordos mais importantes (Belitz e Grosch, 1999; Cook, 2007).

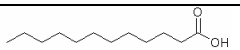
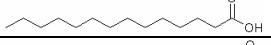
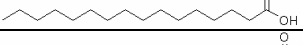
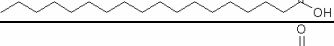
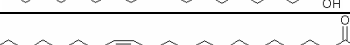


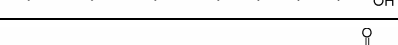
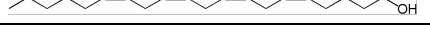
Designação Abreviada	Estrutura	Nome Sistemático	Nome comum
C12:0		Ácido dodecanóico	Ácido láurico
C14:0		Ácido tetradecanóico	Ácido mirístico
C16:0		Ácido hexadecanóico	Ácido palmítico
C18:0		Ácido octadecanóico	Ácido esteárico
C18:1 (9)		Ácido 9-octadecanóico	Ácido oleico
C22:1 (13)		Ácido 13-docosenóico	Ácido erúico
C18:2 (9, 12)		Ácido 9, 12 – octadecadienóico	Ácido linoleico
C18:3 (9, 12, 15)		Ácido 9, 12, 15 – octadecatrienóico	Ácido linolénico
C20:4 (5, 8, 11, 14)		Ácido 5, 8, 11, 14 – eicosatetraenóico	Ácido araquidónico



Figura 4. Cacho de uvas de casta tinta.

A quantidade de óleo na grainha de uva depende muito da variedade de uva e das condições ambientais de crescimento, podendo atingir valores de 10 a 16% (peso seco). Este óleo tem características nutricionais benéficas para a saúde humana, dado integrar uma elevada quantidade de ácidos gordos insaturados esterificados (Gomez et al., 1996; Cao e Ito, 2003) (ver Tabela 4) que diminuem o risco de aparecimento de doenças coronárias, de diabetes, de pressão arterial alta e de impotência (Cao e Ito, 2003). Para além disso, em comparação com óleos de outras sementes, este contém uma percentagem elevada de taninos e de lípidos insaponificáveis, nomeadamente esteróis como o β -sitosterol, o campesterol e o estigmasterol: o nível de taninos pode chegar a ser, em média, 1000 vezes superior ao de outros óleos de sementes e os insaponificáveis atingem os 0.8–1.5% do óleo (Rao, 1994; Cao e Ito, 2003; Luque-Rodríguez et al., 2005). A actividade antioxidante destes compostos confere ao óleo uma maior resistência à peroxidação, fazendo dele um bom ingrediente na formulação de cosméticos para tratamentos de pele seca e anti-envelhecimento (Luque-Rodríguez et al., 2005).

Dentro da família dos ácidos gordos insaturados, o linoleico (C18:2), o linolénico (C18:3) e o arquidónico (C20:4) (ver Tabela 3) são considerados essenciais porque o organismo humano não os consegue sintetizar. No caso do óleo de grainha de uva, o conteúdo em ácido linoleico – um ácido gordo ω -6 – é mais elevado do que o da generalidade dos óleos vegetais. Este ácido é uma importante fonte para a produção de ácido linoleico conjugado (CLA) (Luque-Rodríguez et al., 2005). Ensaio laboratoriais

mostraram que o CLA produzido sinteticamente é um agente eficaz na inibição de cancros como o da mama, do cólon, do estômago e da pele. Em termos nutricionais, o CLA mostrou-se também eficaz na redução da percentagem de gordura em organismos animais (Cao e Ito, 2003; Luque-Rodríguez et al., 2005).

O óleo de grainha de uva é geralmente obtido por extracção da grainha laminada com um solvente orgânico (frequentemente o *n*-hexano) (Gomez et al., 1996; Rosenthal et al., 1996; Passos et al., 2008). Apesar de o *n*-hexano ser eficaz na extracção de óleos, a qualidade nutricional dos produtos finais é baixa, há riscos de incêndio, podendo também surgir problemas ambientais devido à emissão de vapores para o ambiente (Dominguez et al., 1994; Gomez et al., 1996). Alternativamente, pode adoptar-se por uma extracção com CO₂ supercrítico. Uma forma de aumentar o rendimento do processo é tratar previamente a grainha com enzimas glicolíticas, para degradar selectivamente as paredes da célula onde se encontra o óleo (Dominguez et al., 1994; Rosenthal et al., 1996; Passos et al., 2008).

Tabela 4. Composição típica do óleo de grainha de uva em ácidos gordos (Luque-Rodríguez et al., 2005).

Nome comum	Designação Abreviada	% (m/m)
Ácido mirístico	C14:0	0 – 0.2
Ácido palmítico	C16:0	7 – 13
Ácido esteárico	C18:0	3 – 6
Ácido palmitoleico	C16:1	0 – 0.9
Ácido oleico	C18:1 (9)	14 – 25
Ácido linoleico	C18:2 (9, 12)	61 – 73
Ácido linolénico	C18:3 (9, 12, 15)	0 – 0.6

II. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

No âmbito deste trabalho foi efectuada a extracção do óleo de grainha de uva com CO₂ supercrítico. No sentido de aumentar o rendimento da extracção, foi também investigado o efeito que um tratamento de alta pressão podia ter sobre o processo. Assim, apresenta-se neste capítulo uma descrição muito sumária de cada uma destas operações unitárias. Para além disso, inclui-se uma secção com a modelação de uma extracção supercrítica conduzida em modo semi-contínuo, para correlacionar os resultados experimentais obtidos.

II.1. Processamento a pressão elevada (HPP)

As exigências crescentes dos consumidores pela elevada qualidade, frescura e segurança dos alimentos incitaram a indústria alimentar a melhorar continuamente as tecnologias de processamento existentes e a pesquisar novas alternativas de tratamento (Ludikhuyze et al., 2003; Yaldagard et al., 2008).

Desde os trabalhos de Hite, em 1889, que o processamento a pressão elevada (HPP) tem sido reconhecido como uma técnica de preservação alimentar (Basak e Ramaswamy, 1996; Yaldagard et al., 2008), principalmente no que concerne a produtos termossensíveis. Para além disso, o HPP pode proporcionar uma nova estrutura e textura aos alimentos, podendo ser utilizado no desenvolvimento de novos produtos ou no aumento da funcionalidade de certos ingredientes (Saraiva et al., 2002; Castro et al., 2006).

A alta pressão foi aplicada durante muito tempo na produção de cerâmicas, diamante artificial, plásticos, entre outros, estendendo-se progressivamente ao sector alimentar já a uma escala comercial (Yaldagard et al., 2008).

As pressões envolvidas em HPP situam-se geralmente na gama de 1000 a 10000 bar, o que provoca a inactivação de microrganismos e enzimas existentes nos alimentos tratados, mantendo intactas as moléculas, como por exemplo a maioria das vitaminas e os compostos voláteis que conferem sabor aos alimentos (Basak e Ramaswamy, 1996; Smelt, 1998; Yaldagard et al., 2008).

Os alimentos cujas características de sabor e frescura se degradam quando submetidos a tratamentos térmicos (p. ex., sumos de fruta) são por excelência candidatos preferenciais a técnicas de HPP. De facto, os produtos tratados com alta pressão tendem a apresentar características nutritivas, funcionais e sensoriais mais próximas das do produto natural do que quando são tratados termicamente (Rastogi et al., 2007; Yaldagard et al., 2008).

Outra potencialidade interessante dos tratamentos a pressão elevada, e que foi objecto de estudo nesta dissertação, é a possibilidade de eles provocarem um rearranjo ou lise da estrutura dos tecidos de plantas e sementes, podendo aqui resultar um acréscimo do rendimento e da cinética de uma extracção sólido-líquido ou sólido-fluido supercrítico. Este facto permite reduzir os tempos de processamento bem como os gastos de solvente.

Num futuro próximo, a combinação de tratamentos a altas pressões e temperaturas baixas poderá vir a tornar-se uma alternativa industrialmente viável (Rastogi et al., 2007).

Actualmente, os custos envolvidos são ainda bastante elevados, principalmente devido aos capitais fixos iniciais das instalações. Contudo é expectável que diminuam em consequência do desenvolvimento tecnológico, e com isto mais produtos submetidos a este tipo de tratamento cheguem ao mercado (Smelt, 1998).

Neste trabalho utilizou-se o HPP pelo método hidrostático, que consiste em submeter um produto a pressão elevada dentro de um vaso pressurizado, utilizando um meio que transfere a pressão ao produto (para alimentos tem-se utilizado a água). Este método baseia-se em dois princípios gerais: o Princípio de Le Chatelier, segundo o qual qualquer fenómeno (transição de fase, reacção química, etc.) que seja acompanhado por uma redução de volume é favorecido pelo aumento de pressão (e vice-versa); e o Princípio isostático, que indica que a pressão é transmitida de uma forma uniforme e quase

instantânea numa amostra biológica. O processo de pressurização é, portanto, independente do volume e da forma da amostra. No processamento a pressão elevada é utilizado um líquido pouco compressível, como por exemplo a água (Cheftel, 1995).

A aplicação de pressão hidrostática elevada em alimentos tem como vantagens o facto de a transmissão de pressão ao alimento ser praticamente instantânea e homogénea, sendo também uma tecnologia “amiga” do ambiente, dado que usa apenas água e não produz resíduos.

II.2. Extracção supercrítica (SFE)

Os métodos convencionais de extracção com solventes (como o *n*-hexano), embora eficazes, são geralmente pouco selectivos e podem levar à degradação de compostos termossensíveis, bem como deixar resíduos de solvente tóxico no extracto pretendido (Rizvi et al., 1986; Dominguez et al., 1994; Gomez et al., 1996; Rosenthal et al., 1996; Cao e Ito, 2003; Brunner, 2005). Esta problemática tem sido alvo de interesse e daí a crescente regulamentação publicada acerca do assunto (Reverchon, 1997).

A SFE é reconhecida como uma “tecnologia verde” e tem vindo a substituir a utilização de solventes tóxicos e/ou inflamáveis em processos de extracção, com particular incidência nas indústrias alimentar, farmacêutica, biotecnológica e biorrefinarias em geral. Duas áreas relevantes são a recuperação de produtos de alto valor acrescentado e a obtenção de produtos em pequena escala que necessitam de muita especialização química (Rizvi et al., 1986; Dominguez et al., 1994; Reverchon, 1997; Brunner, 2005). Para além disso, a SFE pode ser conduzida numa vasta gama de condições de operação, podendo extrair selectivamente alguns componentes específicos (Gomez et al., 1996; Reverchon, 1997; Tonthubthimthong et al., 2001; Fiori, 2007). No entanto, embora seja uma alternativa tecnologicamente viável, a sua projecção em termos comerciais tem sido lenta, devido em grande parte aos elevados custo do equipamento e da tecnologia que a suporta (Tonthubthimthong et al., 2001; Fiori, 2007).

O dióxido de carbono é o solvente mais utilizado na SFE de produtos naturais, nomeadamente de óleos vegetais (Rosenthal et al, 1996; Perrut et al., 1997; Reverchon, 1997; Brunner, 2005; Fiori, 2007). A pressão e a temperatura de operação têm um impacto

relevante sobre a extracção, nomeadamente ao nível da solubilidade do óleo no CO₂ SC. A Figura 5 mostra a variação da solubilidade de óleos vegetais em função da pressão para duas temperaturas diferentes, calculada pela equação empírica de Valle e Aguilera (1988):

$$\ln y_s = 40.361 - \frac{18708}{T} + \frac{2186840}{T^2} + 10.724 \ln \rho_{\text{CO}_2} \quad (1)$$

onde a solubilidade se exprime em kg.m⁻³, a temperatura em K e a massa volúmica do CO₂ em g/cm³. Verificaram-se bons resultados, com esta equação, para os óleos de soja, girassol, algodão e milho, numa gama de pressões entre 150 e 680 bar e numa gama de temperaturas entre 293 e 353 K. Como se pode observar da Figura 5, a pressão e a temperatura são fulcrais na solubilidade. Para 313 K, a solubilidade aumenta 413% quando se passa de 120 para 200 bar; na mesma gama de pressões, a variação calculada é 1929% para a temperatura de 323 K. O efeito da temperatura traduz-se num aumento de y_s de 397% a 120 bar e de 17% a 200 bar.

Os resultados experimentais de uma SFE em semi-contínuo são vulgarmente apresentados na forma de curvas cumulativas de extracção (ver Figura 6) onde a quantidade de extracto se representa em função do tempo ou da massa de solvente gasto.

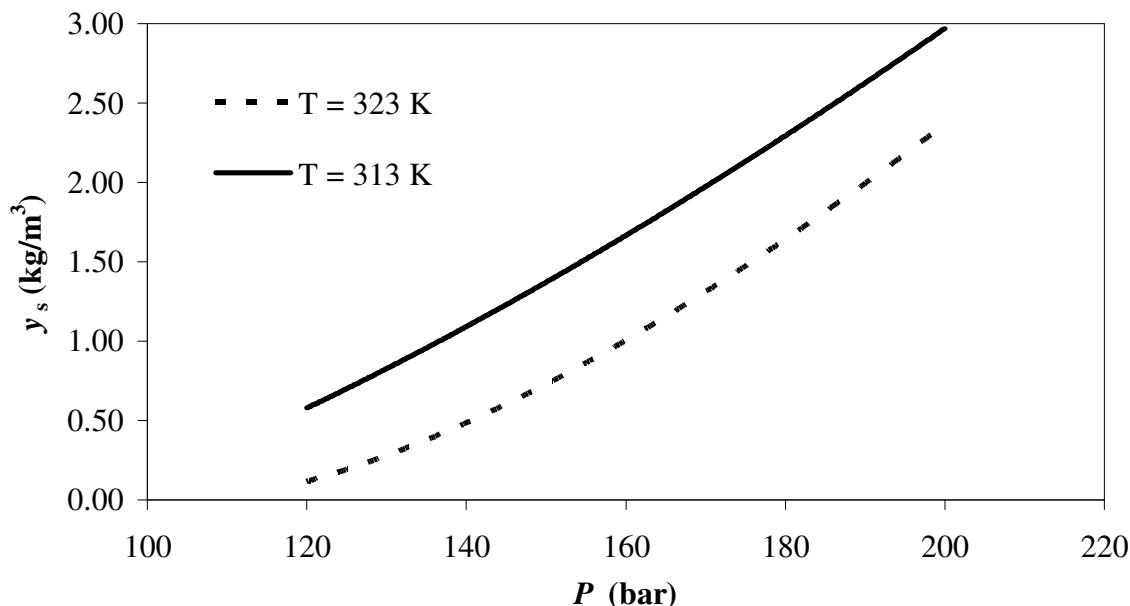


Figura 5. Variação da solubilidade de óleos vegetais em função da pressão para duas temperaturas diferentes, calculada pela equação de Valle e Aguilera (1988).

Desta figura constata-se que o processo de extracção se pode dividir em dois períodos: o primeiro (I), aproximadamente linear, é controlado pelo equilíbrio de solubilidade e convecção no filme, enquanto o segundo (II) é controlado pela difusão interna do óleo nas partículas. Quando a disponibilidade do óleo na matriz sólida é elevada, o que acontece para moagem fina e para biomassa pré-tratada, o primeiro período de extracção pode representar até 95% do óleo total (Perrut et al., 1997; Sovová, 2005).

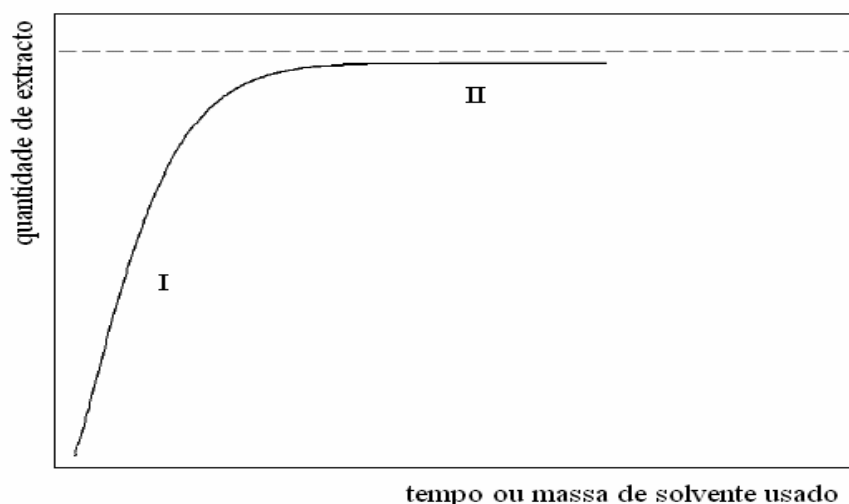


Figura 6. Exemplo típico de uma curva de extracção de óleos de sementes

Na próxima secção descreve-se o modelo efectuado ao extractor para correlacionar os dados experimentais obtidos e simular o processo para outras condições de operação. O objectivo é traduzir as curvas de extracção que foram determinadas e representar graficamente perfis de concentração do fluido dentro do equipamento.

II.3. Modelação da unidade de extracção supercrítica

A modelação matemática de um processo é fundamental para descrever o sistema de forma racional, para tornar possível a generalização dos resultados experimentais obtidos e simular o seu comportamento para diferentes condições operatórias. É uma tarefa

extremamente útil em projecto, quando estão presentes estudos de escala (vulgo *scale-up*) laboratorial-piloto e piloto-industrial (Reverchon e De Marco, 2006).

Um modelo deve traduzir os fenómenos físicos e químicos envolvidos, caso contrário reduzir-se-á a uma expressão empírica que, embora ajuste bem os dados experimentais, é de validade muito limitada.

Os modelos matemáticos propostos para a SFE integram geralmente balanços materiais, leis cinéticas para a transferência de massa, relações de equilíbrio e as condições iniciais e fronteira do problema. Vamos seguidamente apresentar um modelo, para a extracção supercrítica de óleos de sementes e de óleos essenciais, com base nos trabalhos de Perrut et al. (1997) e de Sovová (2005), dado que estes serem capazes de traduzir uma série de casos observados experimentalmente.

Hipóteses do Modelo de Sovová (2005)

As hipóteses subjacentes ao modelo proposto por Sovová (2005) são as seguintes: i) O óleo é uma mistura complexa mas comporta-se como mono-componente; ii) No início, o óleo encontra-se uniformemente distribuído nas sementes não tratadas; iii) As partículas contêm células rompidas na periferia e células intactas no seu interior. Isto resulta dos tratamentos iniciais a que as sementes são submetidas, como por exemplo laminação, moagem e tratamentos enzimáticos. A fracção em volume de células rompidas é r ; iv) O transporte de massa ocorre em série: o óleo das células interiores transfere-se por difusão para as células rompidas; o óleo facilmente acessível destas células transfere-se directamente para a fase fluida por convecção. v) As características do leito (p.ex. porosidade, área superficial específica, densidade aparente, diâmetro médio das partículas, densidade do fluido) permanecem inalteradas ao longo do processo. vi) Escoamento pistão do solvente. São negligenciáveis as perdas de carga e o gradiente de temperaturas ao longo da coluna .

Como a convecção no filme é um fenómeno muito mais rápido do que a difusão na matriz sólida, os pressupostos do modelo permitem explicar a súbita redução da taxa de extracção após o primeiro período.

Modelo de Equilíbrio de Perrut et al. (1997)

O equilíbrio de fases depende das condições de operação (P e T), da composição do soluto, do solvente, e da matriz sólida. Quando a concentração de soluto na fase sólida é

elevada, como acontece no caso de óleos vegetais de sementes, a concentração de equilíbrio da fase fluida é independente da forma e da estrutura da matriz, sendo igual à solubilidade. No entanto, quando a concentração inicial do soluto é muito baixa, o que é típico para óleos essenciais, o equilíbrio é controlado pelas interações soluto-matriz, sendo a concentração da fase fluida muito inferior à solubilidade. Neste caso, o equilíbrio é dado por uma relação linear entre as concentrações da fase sólida com células rompidas e da fase fluida, sendo a constante de proporcionalidade o coeficiente de partição, K (Perrut et al., 1997; Sovová, 2005).

Perrut et al. (1997) adoptaram a relação de equilíbrio fornecida esquematicamente na Figura 7, onde se representa a concentração da fase fluida (y^* , kg óleo/kg solvente) em função da concentração nas células rompidas (x_1 , kg óleo/kg sólido insolúvel). Esta é uma relação descontínua no ponto crítico de transição $x_1 = x_t$: acima dele, y^* coincide com a solubilidade do soluto puro, y_s ; abaixo dele, y^* segue a distribuição linear citada. Matematicamente:

$$\begin{cases} y^*(x_1) = y_s & \text{para } x_1 > x_t \\ y^*(x_1) = Kx_1 & \text{para } x_1 \leq x_t; Kx_t < y_s \end{cases} \quad (2.a)$$

$$(2.b)$$

Fazendo uma experiência de SFE tem-se, atendendo à Figura 7, uma fase inicial (A+B) onde a disponibilidade do óleo é elevada, pelo que o FSC pode inclusivamente chegar a atingir a solubilidade, i.e. a concentração máxima de equilíbrio. Seguidamente, quando a concentração de soluto disponível é baixa, o equilíbrio depende fortemente da interação soluto-matriz (D). A alteração de regime ocorre quando se atinge a concentração de transição na fase sólida, x_t .

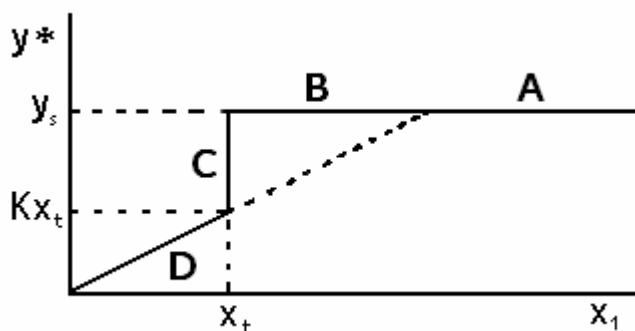


Figura 7. Curva de equilíbrio de solubilidade de óleos de sementes em CO₂ supercrítico segundo Perrut et al. (1997).

Transferência de Massa entre Fases

Como se referiu atrás, uma das hipóteses do modelo de Sovová (2005) é o transporte de massa em série. A Figura 8 mostra um esquema simplificado de uma partícula de semente moída onde estão representados os vectores fluxo de transferência de massa (volumétricos) entre as células intactas e as células rompidas, j_s , e destas para o fluido supercrítico, j_f . As expressões correspondentes são, respectivamente:

$$j_s = k_s a_s \rho_s (x_2 - x_1) \quad (3)$$

$$\begin{cases} j_f = k_f a_0 (y^* - y) \rho_f, & \text{para } x_1 \neq x_t \text{ ou } x_1 = x_t, y < Kx_t \\ j_f = 0, & \text{para os restantes casos} \end{cases} \quad (4.a)$$

$$\quad (4.b)$$

onde k_s e k_f são os coeficientes de transferência de massa, ρ_f é a massa volúmica do fluido, a_s a área específica entre as regiões intactas e rompidas das células e a_0 a área interfacial fluido-sólido, ambas por unidade de volume de leito. Para partículas esféricas de diâmetro d_p , a_0 pode ser calculado por:

$$a_0 = (1 - \varepsilon) \frac{6}{d_p} \quad (5)$$

onde ε é a porosidade do leito.

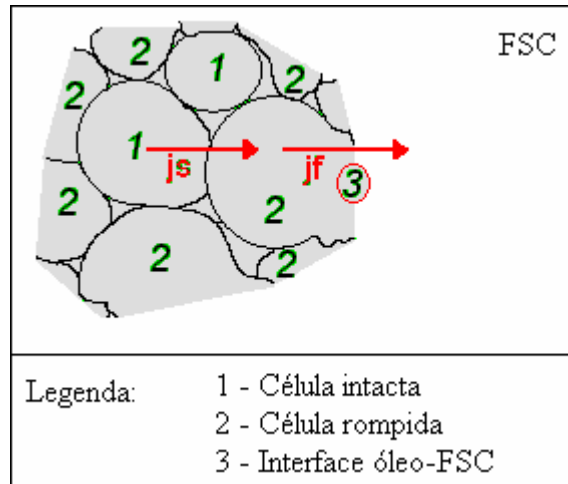


Figura 8. Esquema simplificado do transporte de massa em série numa partícula de semente moída, segundo a abordagem de Sovová (2005).

É importante referir que a descontinuidade da relação de equilíbrio (Eq. 2) se propaga também à expressão de j_f (Eq. 4). De facto, quando x_1 diminui e atinge x_t , a concentração do fluido é igual a y_s . No entanto, a concentração de equilíbrio neste ponto é $y^* = Kx_t < y_s$, pelo que j_f tem que ser nulo até que a diluição do fluido no leito diminua a sua concentração até $y = Kx_t$.

Balanços Materiais, Condições Iniciais e Fronteira

O sistema em estudo descreve-se matematicamente pelos balanços materiais (BM) ao fluido, às células rompidas e às células intactas. Representando U_i a velocidade intersticial do CO_2 , h a posição axial do leito, t o tempo de extracção e x_2 (kg óleo/kg sólido insolúvel) a concentração de óleo nas células intactas, os BM's mencionados são, respectivamente:

$$\varepsilon \rho_f \left(U_i \frac{\partial y}{\partial h} + \frac{\partial y}{\partial t} \right) = j_f \quad (6)$$

$$(1 - \varepsilon) r \rho_s \frac{\partial x_1}{\partial t} = j_s - j_f \quad (7)$$

$$(1 - \varepsilon)(1 - r) \rho_s \frac{\partial x_2}{\partial t} = -j_s \quad (8)$$

As condições iniciais e fronteira envolvidas são:

$$\begin{cases} y(t=0) = y_0 \\ x_1(t=0) = x_{1,0} \\ x_2(t=0) = x_{2,0} \\ y(h=0) = 0 \end{cases} \quad (9)$$

O modelo admite que: i) a concentração inicial do óleo nas células intactas permanece igual ao das sementes não tratadas, x_u :

$$x_{2,0} = x_u \quad (10)$$

e que ii) se estabelece um equilíbrio inicial entre o fluido no extractor e as células rompidas da fase sólida:

$$y_0 = y^*(x_{1,0}) \quad \text{para} \quad x_{1,0} \neq x_t \quad (11)$$

A distribuição do óleo disponível inicialmente nas células rompidas pelas duas fases permite escrever o balanço seguinte no instante inicial:

$$x_u - x_{1,0} = \frac{\varepsilon \rho_f}{(1-\varepsilon) \rho_s} \left(\frac{y_0}{r} \right) = \gamma \left(\frac{y_0}{r} \right) \quad \text{para } t=0 \quad (12)$$

onde $\gamma = \rho_f \varepsilon / (1-\varepsilon) \rho_s$ é a razão entre as massas de fluido e de sólido no leito e ρ_s (kg sólido insolúvel/m³ sólido) é a massa volúmica da fase sólida insolúvel. Combinando as Eqs. 10-12 com a relação de equilíbrio (Eq. 2), as concentrações iniciais subdividem-se em três regiões resultantes da sua descontinuidade para $x_1 = x_t$: A+B, C e D (ver Figura 7).

$$\text{Tipo A+B} \quad \begin{cases} y_0 = y^* = y_s \\ x_{1,0} = x_u - \frac{\gamma}{r} y_s \end{cases} \quad \text{para } x_u - x_t \geq \left(\frac{\gamma}{r} \right) y_s \quad (13)$$

$$\text{Tipo C} \quad \begin{cases} x_{1,0} = x_t \\ y_0 = \frac{r}{\gamma} (x_u - x_t) \end{cases} \quad \text{para } \frac{\gamma}{r} K x_t < x_u - x_t < \frac{\gamma}{r} y_s \quad (14)$$

$$\text{Tipo D} \quad \begin{cases} y_0 = y^* = K x_{1,0} \\ x_{1,0} = \frac{r}{r + \gamma K} x_u \end{cases} \quad \text{para } x_u - x_t \leq \frac{\gamma}{r} K x_{1,0} \quad (15)$$

Curva de Extracção

Conforme se referiu na secção II.2, a curva de extracção é uma curva cumulativa, sendo por isso determinada por integração do caudal mássico de óleo à saída do leito ($h = H$):

$$E(t) = \dot{m} \int_0^t \bar{y}(h = H) dt \quad (16)$$

Nesta equação, \dot{m} é o caudal mássico de CO₂ e $E(t)$ a massa de óleo recolhida até ao instante t .

Modelo Adimensionalizado

O modelo traduzido pelas Eqs. 2-16 pode ser adimensionalizado introduzindo as normalizações seguintes:

$$z = \frac{h}{H} \quad \tau = \frac{t}{t_r} = \frac{t}{H/U_i} \quad Y = \frac{y}{y_0} \quad X_1 = \frac{x_1}{x_{1,0}} \quad X_2 = \frac{x_2}{x_{1,0}} \quad (17)$$

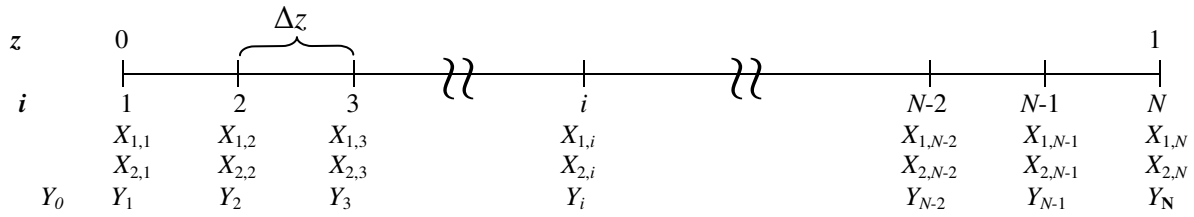
As equações resultantes estão compiladas na Tabela 5.

Tabela 5. Equações do modelo de SFE adimensionalizadas.

Balances materiais			
$\frac{\partial Y}{\partial z} + \frac{\partial Y}{\partial \tau} = \frac{t_r j_f}{\rho_f \varepsilon y_0} = J_f$			(18)
$\frac{\partial X_1}{\partial \tau} = (j_s - j_f) \frac{t_r}{(1-\varepsilon) r \rho_s x_{1,0}} = \frac{1}{r} J_s - \Gamma J_f$			(19)
$\frac{dX_2}{d\tau} = -\frac{1}{(1-r)} J_s$			(20)
Fluxos de óleo e resistências à transferência de massa			
$J_f = \frac{(Y^* - Y)}{\Theta_e} \quad \text{e} \quad \Theta_e = \frac{\varepsilon}{k_f a_0 t_r}$			(21)
$J_s = \frac{(X_2 - X_1)}{\Theta_i} \quad \text{e} \quad \Theta_i = \frac{(1-\varepsilon)}{k_s a_s t_r}$			(22)
Condições iniciais e fronteira			
$Y(\tau=0) = 1$ $X_1(\tau=0) = 1$ $X_2(\tau=0) = 1 + \Gamma \quad \text{com} \quad \Gamma = \frac{\varepsilon \rho_f y_0}{(1-\varepsilon) \rho_s r x_{1,0}}$ $Y(z=0) = 0$			(23)
Curva cumulativa de extracção			
$\Phi = \frac{\Gamma r}{1+\Gamma} \int_0^\tau Y(z=1) d\tau$			(24)
Equilíbrio de fases			
$Y_s = \frac{y_s}{y_0} \quad X_t = \frac{x_t}{x_{1,0}} \quad Y = \bar{K} X_1 \quad \text{com} \quad \bar{K} = \frac{K x_{1,0}}{y_0}$			(25)
$X_1 < X_t \Rightarrow Y^*(X_1) = \bar{K} X_1$ $X_1 > X_t \Rightarrow Y^*(X_1) = \frac{y_s}{y_0} = 1$			(26)
Condições iniciais e fronteira combinadas com a relação de equilíbrio			
Tipo A	$Y_s = 1$	$X_t < 1$	$1 \leq \bar{K} \leq 1/X_t$ (27)
Tipo B	$Y_s = 1$	$X_t \leq 1$	$\bar{K} < 1$ (28)
Tipo C	$Y_s > 1$	$X_t = 1$	$\bar{K} < 1$ (29)
Tipo D	$Y_s > 1$	$X_t \geq 1$	$\bar{K} = 1$ (30)

Solução Numérica do Modelo

Após a adimensionalização do sistema de equações diferenciais às derivadas parciais compiladas na Tabela 5, a solução numérica foi obtida pelo método das linhas (Schiesser, 1994), discretizando a coordenada espacial com diferenças finitas atrasadas de 2ª ordem (usando 50 pontos). As equações discretizadas estão listadas na Tabela 6. Pode ver-se no esquema seguinte uma representação da discretização efectuada, onde: $\Delta z = 1/(N-1)$, $z = (i-1)\Delta z$ e $N = 50$.



Desta forma, obteve-se um sistema de equações diferenciais ordinárias acopladas, para Y , X_1 e X_2 em cada ponto do leito. A Equação 24 foi acrescentada ao sistema anterior como uma equação diferencial adicional, para que o rendimento, $\Phi(\tau)$, fosse obtido simultaneamente com os valores de Y , X_1 e X_2 . Estas equações foram integradas utilizando a função ode45 do Matlab.

Tabela 6. Equações discretizadas do modelo de SFE adimensionalizado.

Balanços Materiais Adimensionalizados			
$\frac{dY_1}{d\tau} = -\frac{Y_1 - Y_0}{\Delta z} + J_{f,1}$	com	$J_{f,i} = \frac{(Y^* - Y_i)}{\Theta_e}$	$i = 1$ (31)
$\frac{dY_2}{d\tau} = -\frac{3Y_2 - 4Y_1 + Y_0}{2\Delta z} + J_{f,2}$	com	$J_{s,i} = \frac{(Y^* - Y_i)}{\Theta_i}$	$i = 2$ (32)
$\frac{dY_i}{d\tau} = -\frac{3Y_i - 4Y_{i-1} + Y_{i-2}}{2\Delta z} + J_{f,i}$			$i = 3, \dots, N$ (33)
$\frac{dX_{1,i}}{d\tau} = \frac{1}{r} J_{s,i} - \Gamma J_{f,i}$	e	$\frac{dX_{2,i}}{d\tau} = \frac{1}{1-r} J_{s,i}$	$i = 1, \dots, N$ (34)
Condições Iniciais e Fronteira			
$Y(z=0) = Y_0 = 0$			(35)
$Y_i = 1, X_{1,i} = 1, X_{2,i} = 1 + \Gamma$ para $\tau = 0$			$i = 1, \dots, N$ (36)
Curva Cumulativa de Extração			
$\frac{d\Phi}{d\tau} = \left(\frac{\Gamma r}{1 + \Gamma} \right) Y_N$ em que $\Phi(0) = 0$			(37)

III. PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo apresenta-se uma descrição das diferentes actividades laboratoriais que foram realizadas no âmbito da dissertação. Começa-se pelo processamento da grainha da uva, que compreende a sua limpeza, moagem e classificação, seguindo-se o tratamento de alta pressão (HPP), a extracção convencional do óleo em Soxhlet, a extracção com dióxido de carbono supercrítico e, por último, a determinação do perfil de triacilglicerídeos.

III.1. Processamento da grainha de uva

As grainhas foram seleccionadas a partir de uvas (*Vitis vinífera* L.) da casta tinta Touriga Nacional. As uvas foram vindimadas nas Caves Messias (Anadia, Portugal) durante o mês de Setembro de 2007, altura em que atingiram a designada maturidade tecnológica para se proceder à colheita.

As grainhas foram recolhidas durante a transferência do mosto para fermentação e separaram-se da polpa e das peles por decantação, secagem e peneiração. Uma primeira lavagem da grainha permitiu remover as que flutuavam na água, uma vez que estas não possuem óleo no seu interior. Posteriormente, colocaram-se as grainhas num erlenmeyer com um agitador magnético e efectuaram-se diversas lavagens com água (200 g/L) a cerca de 4°C e durante um período mínimo de três dias (ver Figura 9.a). Foram feitas pelo menos duas mudanças de água por dia, até se observar uma turvação mínima da água de lavagem. Seguidamente, as grainhas foram lavadas com etanol, secas numa estufa a 40 °C e

guardadas num frigorífico. As Figuras 9.b e 9.c mostram as sementes antes e depois da secagem.

A preparação das grainhas termina com a moagem e classificação das partículas por tamanhos. Para isso utilizou-se o moinho de café mostrado na Figura 10.a e o peneiro com separadores de vários *mesh* da Figura 10.b; os tamanhos dos peneiros são: <0.50, 0.50-0.60, 0.60-0.71, 0.71-1.0, 1.0-1.4, 1.4-2.0, >2.0 mm. Usou-se sempre em todas as experiências dois diâmetros médios de partícula, uma vez que este afecta significativamente o rendimento da extracção. Para isso, utilizou-se predominantemente partículas no intervalo [0.71; 1.4] mm, tendo-se calculado o seu diâmetro médio pela equação de Sauter (Povh et al., 2001). Os valores são $d_p = 0.75$ e 0.85 mm.

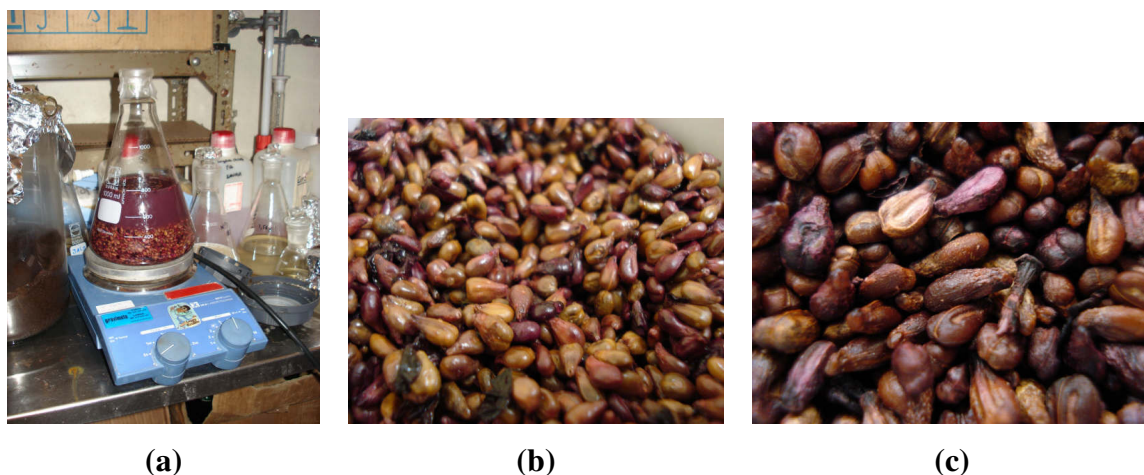


Figura 9. (a) Lavagem da grainha; (b) Grainha húmida; (c) Grainha seca final.



Figura 10. (a) Moinho doméstico de café; (b) Classificador de peneiros.

III.2. Tratamento a pressão elevada (HPP)

Para além da extracção do óleo da grainha de uva moída, pretendeu-se neste trabalho investigar o aumento do rendimento da extracção à custa de um pré-tratamento de alta pressão. A ideia subjacente foi que um ciclo de pressão elevada poderia alterar a estrutura da matriz sólida das partículas e/ou eventualmente romper as células que contêm o óleo armazenado. Estes factos poderiam provocar um aumento da quantidade de óleo extraído ou pelo menos incrementar a velocidade de extracção.

Os ensaios de HPP foram realizados no equipamento da Figura 11.a (Unipress Equipment, Model U33, Poland), que funciona a pressão hidrostática, tem uma capacidade de 100 mL, pressão máxima de operação de 7000 bar, e pode funcionar numa gama de temperaturas de -20 a 100 °C.

A grainha previamente moída foi colocada dentro de um saco com água (2 mL de água por grama de semente – ver Figura 11.b) durante uma noite, foi posteriormente submetida à alta pressão e levada ao liofilizador para remover a água (ver Figura 11.c). As experiências de HPP foram conduzidas a 22 °C numa gama de pressões de 1000 a 5000 bar durante 15 minutos. A grainha tratada foi depois submetida a extracções em Soxhlet com *n*-hexano para medir o rendimento de remoção. Os resultados foram comparados com os ensaios com amostras não-tratadas. As amostras que foram alvo de extracções com CO₂ supercrítico foram sujeitas à pressão de 1000 bar, durante 15 min a 22 °C.

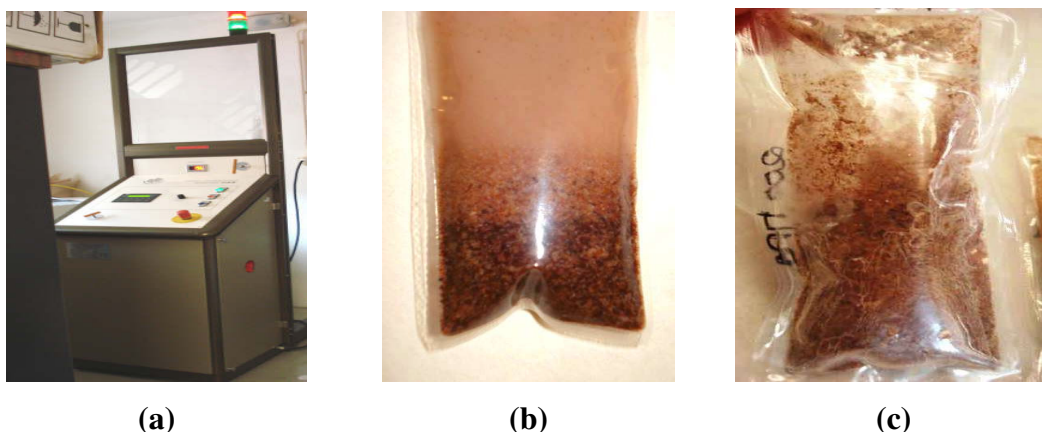


Figura 11. (a) Equipamento utilizado no tratamento de pressão elevada (Unipress Equipment, Model U33); (b) saco com a amostra de grainha em água antes do tratamento; (c) amostra tratada e já liofilizada.

III.3. Extracção convencional em Soxhlet

As extracções em Soxhlet foram realizadas com 150 mL de *n*-hexano num aparelho com uma câmara de 50 mL de capacidade e cartucho de 23×100 mm, durante 4 h e em alguns casos 20 h e 72 h (Figura 12). A massa de óleo foi determinada gravimetricamente após remoção do solvente. Para garantir que o óleo final não transporta resíduos de água, os extractos do Soxhlet foram primeiramente filtrados sob vácuo num filtro poroso de vidro (tamanho G1) onde se colocou sulfato de sódio anidro. Seguidamente, o *n*-hexano do filtrado foi removido num evaporador rotativo a 30 °C e o óleo resultante transferido para tubos de speed-vacuum. O rendimento da extracção (η , %) foi calculado como a massa de óleo extraído de 100 g de grainha seca.



Figura 12. Instalação utilizada para as extracções em Soxhlet.

III.4. Extracção supercrítica (SFE)

Os ensaios de extracção do óleo de grainha de uva com CO₂ supercrítico foram realizados num equipamento montado no Departamento de Química da Universidade de Aveiro. Apresenta-se de seguida uma descrição muito sumária do equipamento e o procedimento experimental.

Instalação Experimental

A Figura 13 mostra um esquema simplificado da instalação experimental de SFE utilizado neste trabalho. O CO₂ sai da garrafa ($P \cong 60$ bar) e atravessa um banho refrigerante onde é liquefeito a cerca de -10 °C. Seguidamente é pressurizado por uma bomba pistão para líquidos, de acção pneumática, para um tanque acumulador intermédio onde atinge os 320 bar. A pressão no interior do extractor ($P=180$ bar) é regulada pelo *forward pressure regulator* FPR1, passando depois o CO₂ pelo medidor mássico que indica simultaneamente o caudal instantâneo e a quantidade total de solvente consumido. O CO₂ é aquecido até à temperatura de extracção numa bobina de tubagem situada imediatamente antes do extractor e colocada dentro da estufa. Depois de percolar o leito com a grainha de uva moída (pré-tratada ou não por alta pressão) a mistura atravessa uma zona de descompressão, aquecida, que integra o *forward pressure regulator* FPR2 e uma válvula de agulha. No final deste estágio a mistura atinge a pressão atmosférica, o óleo precipita dentro do vaso de recolha de amostras e o CO₂ é eliminado para uma *hotte*. A Figura 13 mostra também a válvula para a injeção do solvente de lavagem (etanol ou *n*-hexano), cuja função é solubilizar o óleo que precipita no ramo de descompressão.

O extractor propriamente dito é de aço, cilíndrico e tem um volume interno de 1.6×10^{-4} m³ (altura $H = 0.13$ m, diâmetro interno $D_i = 0.04$ m). O vaso de recolha tem uma capacidade de 3.0×10^{-4} m³. A Figura 14 mostra uma fotografia da estufa, onde se pode ver o extractor e o FPR2.

Procedimento e Condições de Operação da SFE

Colocaram-se aproximadamente 0.07 kg de grainha de uva previamente preparada no interior do extractor e uma pequena quantidade de palha-de-aço no topo para fixar o leito. As experiências foram conduzidas a 180 bar, 40 °C, com um caudal constante de CO₂ igual a 0.010 kg/min. O caudal fixou-se por manipulação do FPR2 e da válvula de agulha. Depois de ter sido iniciada, a extracção era interrompida ao fim de alguns intervalos de tempo para se efectuar a lavagem da linha da zona de descompressão e recolher o óleo precipitado no vaso de amostras. A solução (óleo/*n*-hexano) assim obtida era depois processada da mesma forma que em III.3 para se recuperar o óleo de grainha de uva extraído durante este intervalo de tempo. A curva de extracção experimental corresponde à representação da massa total de óleo recolhido até ao instante t versus t , ou

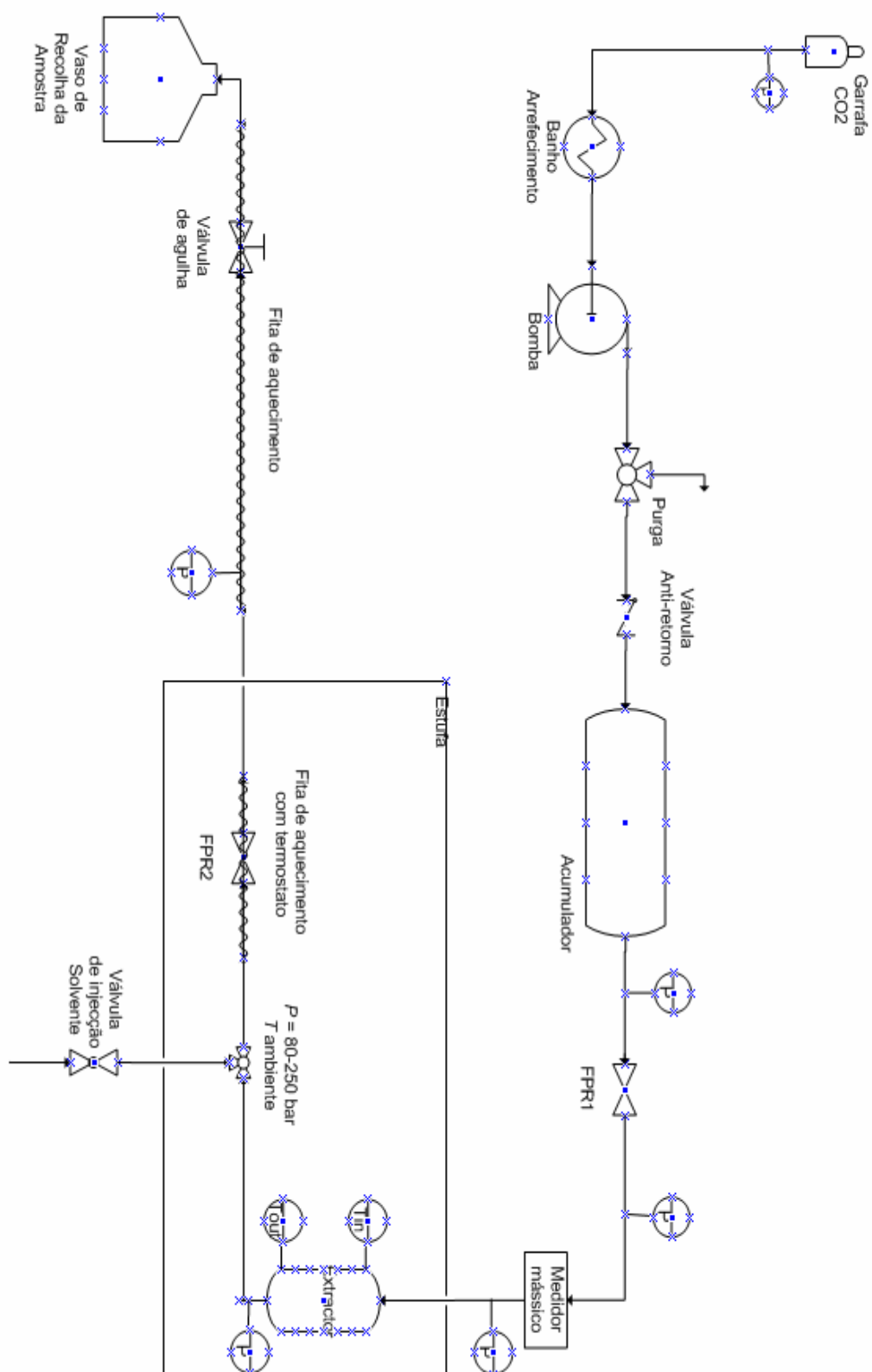


Figura 13. Esquema simplificado da instalação de extração supercrítica.

alternativamente, *versus* a massa de CO₂ total consumido. O número de pontos desta curva iguala o número de paragens efectuadas.



Figura 14. Fotografia da estufa onde se encontra o extractor supercrítico (à esquerda) e o FPR2 (à direita).

III.5 Determinação do perfil de triacilglicerídeos do óleo extraído

O óleo de grainha de uva extraído foi caracterizado por cromatografia em fase gasosa (GC). Para isso, prepararam-se os ésteres metílicos de ácidos gordos segundo a metodologia da IUPAC, sem o uso de aquecimento (IUPAC, 1987). Apresenta-se de seguida os procedimentos experimentais da transesterificação e da análise cromatográfica.

Transesterificação.

A reacção de transesterificação foi realizada com metóxido de sódio à temperatura ambiente, para reduzir o risco de decomposição dos ácidos gordos insaturados (Aued-Pimentel, 2004). Trata-se de uma metodologia simples e de execução rápida que compreende a preparação de um padrão interno (escolheu-se o C17:0, éster metílico de heptadecanoato). Usou-se aproximadamente 100 mg da amostra de óleo, dissolvida em 1

mL de *n*-hexano, e adicionou-se 4 mL da solução de padrão interno (1.3 g/L). Acrescentou-se seguidamente 0.2 mL de uma solução metanólica de KOH a 2 M. Selada a amostra, esta foi sujeita a uma agitação forte durante 30 segundos num agitador vortex, e adicionaram-se 2 mL da solução de cloreto de sódio (NaCl) saturada. A amostra foi depois submetida a uma centrifugação a 2000 rpm durante 5 min. Por fim, retirou-se 1 mL da fase orgânica (que era a menos densa) para outro tubo. Usaram-se alíquotas de 0.1-0.5 µL da fase orgânica para a análise de GC.

GC-FID

Após a metilação, os ésteres metílicos de ácidos gordos analisados foram separados num cromatógrafo de gás (Perkin Elmer Clarus 400), equipado com uma coluna capilar de 30 m × 0.32 mm (diâmetro interno) de sílica fundida DB-FFAP (J&W Scientific Inc., Folsom, CA, USA) e um detector de ionização de chama (Figura 15). Usou-se o modo *split* de injeção com uma razão de 20:1 (5 min). Programou-se previamente o injetor para funcionar a 245 °C e o detector a 250 °C. O programa de temperaturas do forno que foi adoptado encontra-se na Figura 16. O gás de arrasto usado foi o hidrogénio com caudal de 50 mL/min.



Figura 15. Cromatógrafo de gás (Perkin Elmer Clarus 400) utilizado neste trabalho.

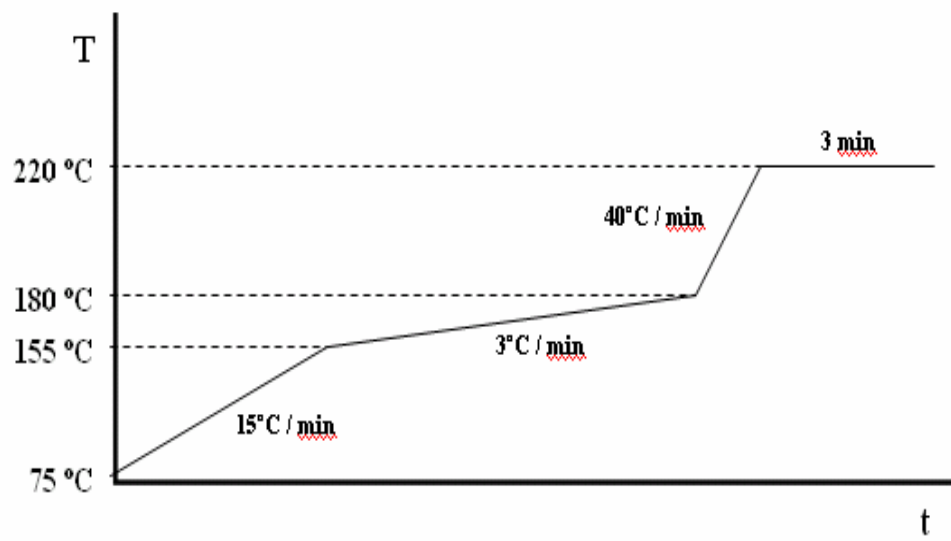


Figura 16. Programa de temperaturas do forno.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo apresentam-se os resultados do trabalho experimental e da modelação realizados no âmbito desta dissertação. Discutem-se: i) o impacto do tamanho médio das partículas de grainha moída sobre o rendimento da extracção, ii) as curvas cumulativas de SFE medidas, iii) a modelação efectuada (correlação de dados experimentais, perfis de concentração no leito e curvas de eluição) e, para terminar, iv) os perfis de triacilglicerídeos do óleo extraído para se avaliar a qualidade do óleo.

IV.1. Importância do diâmetro médio de partícula sobre o rendimento da extracção

Dada a importância que o diâmetro médio das partículas, d_p , tem no valor final do rendimento de extracção, foram efectuadas neste trabalho duas moagens distintas à grainha de uva para lhe modificar a fracção de óleo disponível. Para as partículas de menor diâmetro ($d_p = 0.75$ mm), o rendimento determinado por Soxhlet com *n*-hexano durante 4 horas foi 11.59%, enquanto as partículas maiores ($d_p = 0.85$ mm) deram origem a $\eta = 6.72\%$ (Figura 17). Assim, uma diminuição no diâmetro de partícula de 13% origina um aumento de 42% no rendimento de extracção. Estes resultados podem ser consultados na Tabela 7. Concluindo, o η do óleo de grainha de uva é substancialmente afectado por d_p .

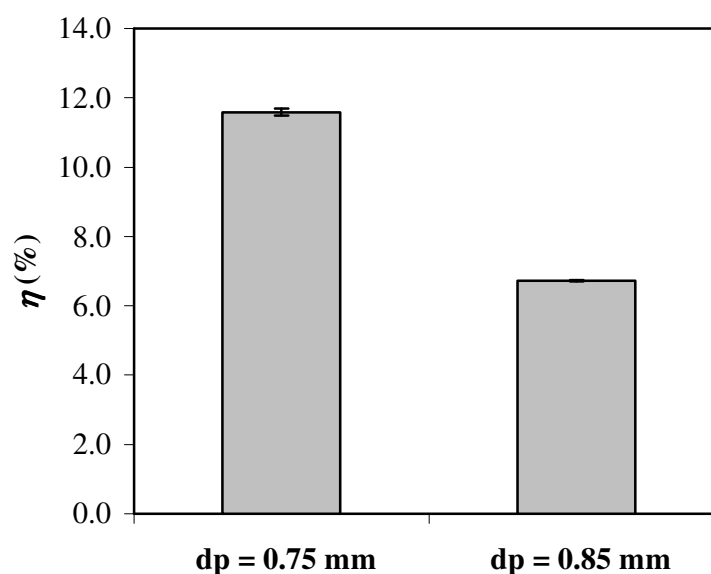


Figura 17. Rendimento de extracção em função do diâmetro médio de partícula de grainha moída.

Importa salientar que se encontra na literatura (Gomez et al., 1996; Sovová, 2005; Fiori, 2007) informação sobre a importância do diâmetro médio de partícula nos processos de extracção, embora haja pouca informação no que respeita ao impacto da distribuição de tamanhos sobre o rendimento de extracção. No entanto, este aspecto não foi alvo de estudo nesta dissertação dada a extensão do trabalho experimental já envolvido.

IV.2. Influência dos tratamentos a pressão elevada sobre o rendimento da extracção

Depois de se analisar o impacto do diâmetro de partícula sobre o rendimento de extracção, estudou-se a influência que os tratamentos a pressão elevada podem ter sobre ele. Escolheram-se amostras com $d_p = 0.85$ mm, pois eram as que à partida exibiam o rendimento mais baixo ($\eta = 6.72\%$).

As amostras de grainha de uva submetidas a ensaios de HPP foram depois sujeitas a extracções em Soxhlet durante 4 e 20 h, conforme se descreveu na secção III.3. Os resultados estão patentes na Figura 18 e permitiram observar uma quebra do rendimento de

extracção com o aumento da pressão aplicada – 2.67%, 4.32% e 14.14% para as pressões de 1000, 3000 e 5000 bar, respectivamente.

Numa tentativa de interpretar o decréscimo referido, repetiram-se as extracções em Soxhlet para um tempo de 20 h, de forma a descartar a possibilidade de o tempo de separação de 4 h ter sido insuficiente. De facto, certos estudos mostraram que os tratamentos de alta pressão chegam a integrar a água da suspensão na estrutura dos alimentos (Saraiva, 2008). Adicionalmente, poderia ter acontecido que o pulso de pressão aplicado tivesse comprimido de tal forma a estrutura da biomassa que esta passaria a reter no interior das partículas parte do óleo anteriormente disponível.

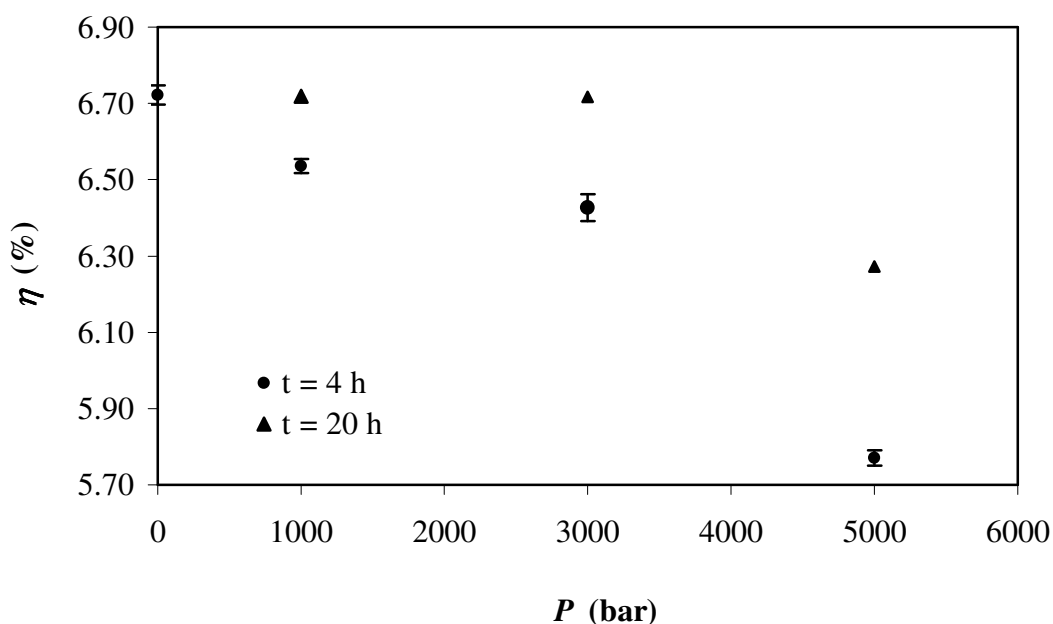


Figura 18. Rendimento de extracção (η , %) em função da pressão aplicada durante os ensaios de HPP, para $d_p = 0.85$ mm, $t = 15$ min e para dois tempos distintos de extracção em Soxhlet.

Os novos resultados foram esclarecedores, pois os rendimentos medidos durante 20 h com as amostras tratadas a 1000 e 3000 bar foram semelhantes ao valor para grainha sem HPP durante 4 h. Para o ensaio a 5000 bar, o valor obtido ao fim de 20 h não atinge o rendimento do branco, apesar de ser superior ao primeiro Soxhlet de 4 h. Este resultado foi posteriormente confirmado com um Soxhlet de 72 h, o que sugere que a estrutura da

grainha foi alterada no decurso do HPP, traduzindo-se numa diminuição da acessibilidade ao óleo das partículas tratadas.

Os resultados das extracções efectuadas durante 4 h são a média de três réplicas. O mesmo não ocorre para os ensaios de 20 h, onde se tem uma única réplica. Esta situação deveu-se a uma avaria no equipamento de alta pressão, o que nos impossibilitou de realizar mais experiências.

IV.3. Extracção supercrítica do óleo de grainha de uva

As curvas cumulativas correspondentes às duas extracções supercríticas realizadas a 40°C e 180 bar com grainha pré-tratada (HPP) e não tratada estão representadas na Figura 19. As restantes condições de operação podem consultar-se na Tabela 7.

Da Figura 19 observa-se que as duas curvas de extracção apresentam rendimentos finais bastante diferentes, nomeadamente $\eta(\text{com HPP}, d_p = 0.85 \text{ mm}) = 6.95\%$ e $\eta(\text{sem HPP}, d_p = 0.75 \text{ mm}) = 11.47\%$, o que deriva de se terem usado diâmetros médios de partícula distintos. Confrontando estes resultados com os da Figura 17 constata-se que se recupera 103.4% de óleo no caso da grainha com HPP e 99.0% usando grainha não tratada. O ligeiro acréscimo no primeiro caso deve-se à acção do pré-tratamento de alta pressão. No cômputo geral, estes resultados comprovam que a extracção supercrítica é um processo eficaz para a remoção do óleo de grainha de uva.

Quanto ao andamento das curvas cumulativas de extracção, a Figura 19 torna patente que elas compreendem os dois períodos típicos descritos anteriormente na secção II.2: um primeiro, aproximadamente linear, controlado pela convecção no filme, onde se extrai a maior parte do óleo disponível e um segundo período, controlado pela difusão interna do óleo nas partículas, que tem pouco impacto no rendimento final e tende para um patamar (Perrut et al., 1997; Sovová, 2005). Na experiência com grainha pré-tratada, o primeiro período de extracção prolonga-se até aproximadamente $t = 420 \text{ min}$ e remove-se 92.4% do óleo disponível. Em contrapartida, a grainha sujeita a HPP perde 90.4% do seu óleo nos 200 minutos iniciais. Os incrementos do rendimento de extracção devidos ao segundo período quedam-se por 7.6% e 9.6%, respectivamente.

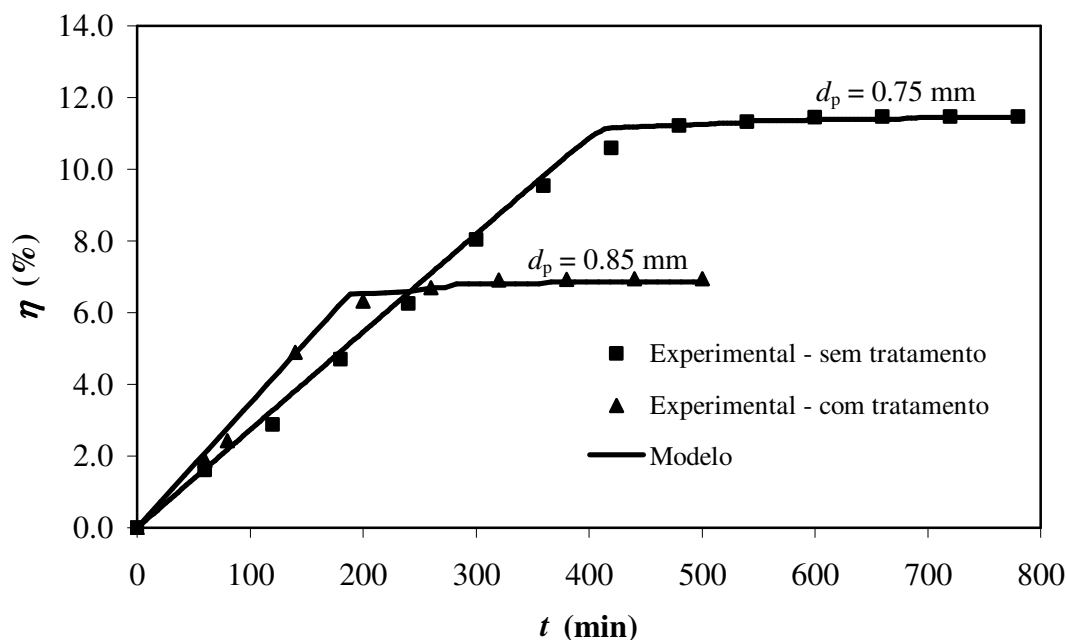


Figura 19. Curvas cumulativas de extração supercrítica do óleo de semente de uva obtidas a 180 bar e 40°C para amostras com e sem HPP (ver condições operatórias e parâmetros na Tabela 7).

Em termos de óleo recuperado por quilograma de solvente consumido, o primeiro período de extração foi, como se previa, mais produtivo. De facto, durante esta fase da separação consegue-se remover da amostra sem HPP 1.45 g de óleo por cada kg de CO₂ utilizado, conseguindo-se na outra amostra um valor de 2.06 g de óleo por cada kg de CO₂ utilizado. Estes valores são claramente superiores aos do segundo período de extração, 0.150 e 0.143 g/kg, respectivamente, o que confirma que, a nível industrial, a fase mais rentável do processo é a primeira.

Comparando os dois ramos iniciais das curvas de extração observa-se que possuem declives diferentes, o que implica taxas de extração também diferentes. Assim, para além de o acréscimo do rendimento final da extração atribuível ao HPP ser de apenas 3.4%, a semente pré-tratada oferece uma velocidade de extração superior à não-tratada, o que permite reduzir o tempo de separação necessário para produzir a mesma quantidade de óleo por unidade de massa de semente e de CO₂ consumido. Por exemplo, o rendimento de 6.0% é atingido em 184 min com semente pré-tratada e em 228 min com semente não tratada, a que correspondem as velocidades de extração de 0.0263 e 0.0326 kg de óleo por

kg de semente e por kg de solvente gasto, respectivamente. Ou seja, consegue-se um aumento de 39.7% na taxa de produção.

Tabela 7. Condições de operação e propriedades do sistema para as experiências de SFE realizadas, juntamente com os parâmetros otimizados do modelo.

	Sem HPP	Com HPP (1000 bar; 15 min.)
d_p (m)	0.00075	0.00085
η_{Soxhlet} (%)	11.59	6.72
H (m)	0.1300	
D_i (m)	0.0400	
P (bar)	180	
T (°C)	40	
m_{grainha} (kg)	0.0644	0.0646
\dot{m} (kg/min)	0.0100	
η_{SFE} (%)	11.47	6.95
ε	0.37	0.55
ρ_{leito} (kg/m ³)	688	496
ρ_f (kg/m ³) ^a	822.9	
μ (kg/m.min) ^b	0.0045072	
U_0 (m/min)	0.00967	
U_i (m/min)	0.02614	0.01758
H/d_p	173.3	152.9
$\text{Re}_{\text{superficial}}$	70.63	
y_s (kg óleo/kg solvente) ^c	0.002684	
y_0 (kg óleo/kg solvente)	0.001758	0.002234
$k_f a_0$ (min ⁻¹)	5.279	5.217
$k_s a_s$ (min ⁻¹)	3.892×10^{-5}	4.624×10^{-5}
r	0.5590	0.3227
$t_{\text{estequiométrico}}$ (min)	421	196
t_r (min)	13.44	
ZTM (% de H) ^d	7.2	4.8 – 5.0
AAD (%)	2.72	2.36

^aNIST (2000); ^bFenghour et al. (1972); ^cValle e Aguilera (1988); ^dLimites de detecção: 5% e 95%.

Sobrepostas aos dados experimentais da Figura 19 estão as correlações obtidas com o modelo descrito na secção II.3. Este representa bem os dados experimentais nos dois ramos de $\eta = \eta(t)$ e, atendendo à complexidade dos fenómenos envolvidos no processo, os erros percentuais calculados, $AAD_{s/HPP} = 2.72\%$ e $AAD_{c/HPP} = 2.36\%$, podem considerar-se muito bons. Os parâmetros otimizados foram: $y_0 = 0.001758$ kg óleo/kg solvente, $k_f a_0 = 5.279 \text{ min}^{-1}$, $k_s a_s = 3.892 \times 10^{-5} \text{ min}^{-1}$ e $r = 0.5590$ para a amostra sem HPP, e $y_0 = 0.002234$ kg óleo/kg solvente, $k_f a_0 = 5.217 \text{ min}^{-1}$, $k_s a_s = 4.624 \times 10^{-5} \text{ min}^{-1}$ e $r = 0.3227$ para a grainha pré-tratada. Dos valores de $k_f a_0$ e $k_s a_s$ conclui-se que a importância da transferência de massa no filme é várias ordens de grandeza superior à observada no interior da partícula, o que está de acordo com a predominância do primeiro período de extracção face ao segundo.

Um dos pressupostos do modelo é admitir escoamento pistão da fase fluida, i.e. a dispersão axial é desprezável (hipótese vi; secção II.3). Esta hipótese tem toda a validade, uma vez que se observa, em ambos os casos, a regra dos 50 diâmetros (Froment e Bischoff, 1979): $H/d_p = 173.3 \gg 50$, para a amostra sem tratamento, e $H/d_p = 152.9 \gg 50$ para a amostra com HPP.

A partir do declive da curva de extracção, $\eta(t)/t$, pode determinar-se a composição média do efluente do extractor, $\bar{y}(h=H)$, por um simples balanço material:

$$\dot{m} \times t \times \bar{y}(h=H) = m_{\text{óleo}} = \eta \times m_{\text{grainha}} \quad (38)$$

Para as condições de operação das duas experiências realizadas (ver Tabela 7) os valores de $\bar{y}(h=H)$ obtidos foram 0.001758 kg/kg, para a amostra sem tratamento, e 0.002234 kg/kg, para amostra com tratamento. Estes valores comprovam que durante a extracção nunca se atingiu a solubilidade do óleo no CO_2 SC, pois do modelo de Valle e Aguilera (1988) (Eq. 1) vem que $y_s = 0.002684$ kg/kg.

Da definição de r (fracção volumétrica de células rompidas) pode estabelecer-se outra relação muito simples com o rendimento, se admitirmos que o óleo obtido no segundo período de extracção é desprezável. Neste caso,

$$\eta \times m_{\text{grainha}} = r \times V_{\text{grainha}} \times \rho_s \times x_u \quad (39)$$

o que implica que amostras de semente sujeitas a moagens e/ou tratamentos diferentes devem obedecer a $\eta_2/\eta_1 = r_2/r_1$. Substituindo os valores experimentais de η e os r 's otimizados, as duas razões dão 20.7 e 20.3. Este resultado reforça que o modelo traduz com realismo o processo de SFE, uma vez que o parâmetro r tomou valores com significado físico.

Com o auxílio do modelo, e utilizando os parâmetros otimizados anteriormente, foi possível calcular os perfis de concentração de óleo na fase fluida do leito. Estão representados na Figura 20 em termos de $Y = y/y_0$ versus $z = h/H$, para a grainha não tratada, e para os instantes de tempo $t = 71, 225$ e 371 min. A largura da zona de transferência de massa (ZTM) para os três casos vale aproximadamente 7.2% do comprimento do leito, tendo-se adoptado para o seu cálculo os limites 0.05 e 0.95 da concentração inicial para início e fim da ZTM. Para o caso de grainha pré-tratada, mostram-se na Figura 21 os perfis para $t = 20, 70$ e 150 min, a que correspondem ZTMs de 4.8 a 5.0% de H . Pode concluir-se que o processamento da semente a pressão elevada torna a onda de concentrações que atravessa o leito mais acentuada, isto é menos dispersa.

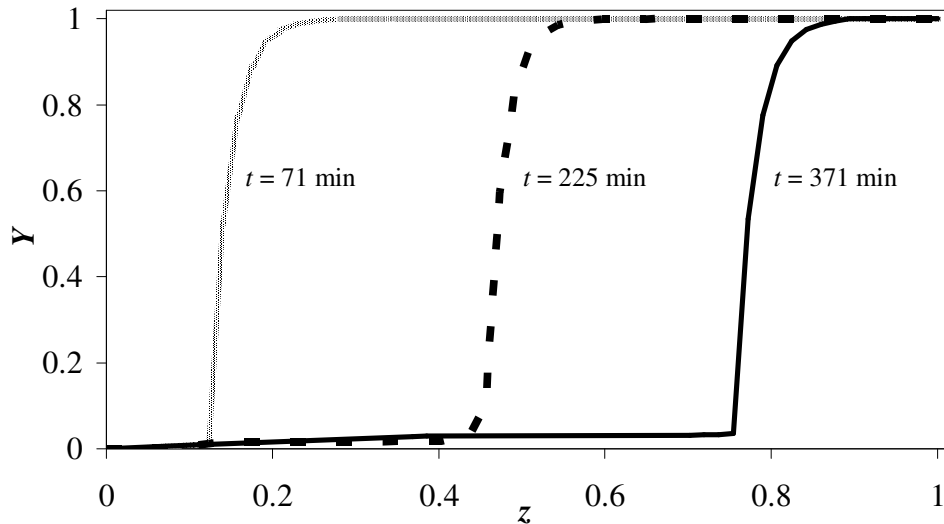


Figura 20. Perfis normalizados de concentração de óleo na fase fluida do leito para a SFE de grainha não tratada (ver condições experimentais na Tabela 7).

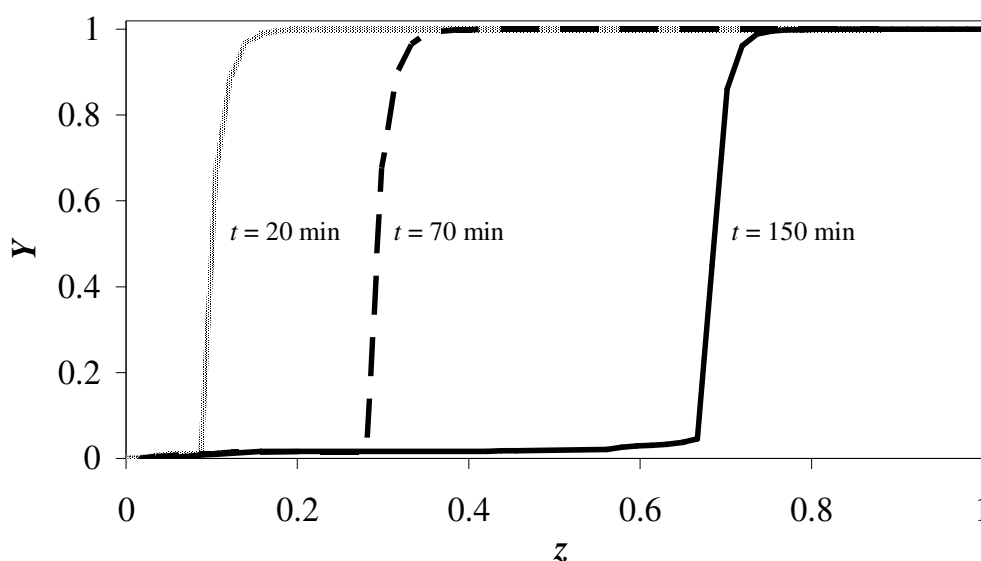


Figura 21. Perfis normalizados de concentração de óleo na fase fluida do leito para a SFE de grainha pré-tratada (ver condições experimentais na Tabela 7).

Na Figura 22 mostra-se a curva de eluição, $Y_{h=H}(t)$, da SFE da grainha sem pré-tratamento, que nos dá a concentração do fluido à saída do leito em função do tempo. Esta compreende 319 min de composição constante e igual à concentração inicial ($Y=1$), caindo depois para zero nos 110 minutos seguintes. Por analogia com as curvas de ruptura dos processos de percolação (em inglês, *breakthrough curves*) calculou-se o tempo estequiométrico da frente de concentrações, ou seja, o tempo que uma frente rectangular ideal demoraria a atravessar o leito. Obteve-se um valor de 421 min, o que significa que a sua velocidade de propagação é 2.734×10^{-4} m/min. Comparada com a velocidade intersticial da fase fluida, $U_i = 2.614 \times 10^{-2}$ m/min, a primeira é 96 vezes superior. Não se apresentam graficamente os resultados para semente pré-tratada, uma vez que são inteiramente análogos aos anteriores. No entanto, o tempo estequiométrico calculado para este caso é 196 min e a velocidade de propagação da onda no leito é 5.013×10^{-4} m/min, ou seja, 35 vezes superior à velocidade intersticial do solvente ($U_i = 1.758 \times 10^{-2}$ m/min).

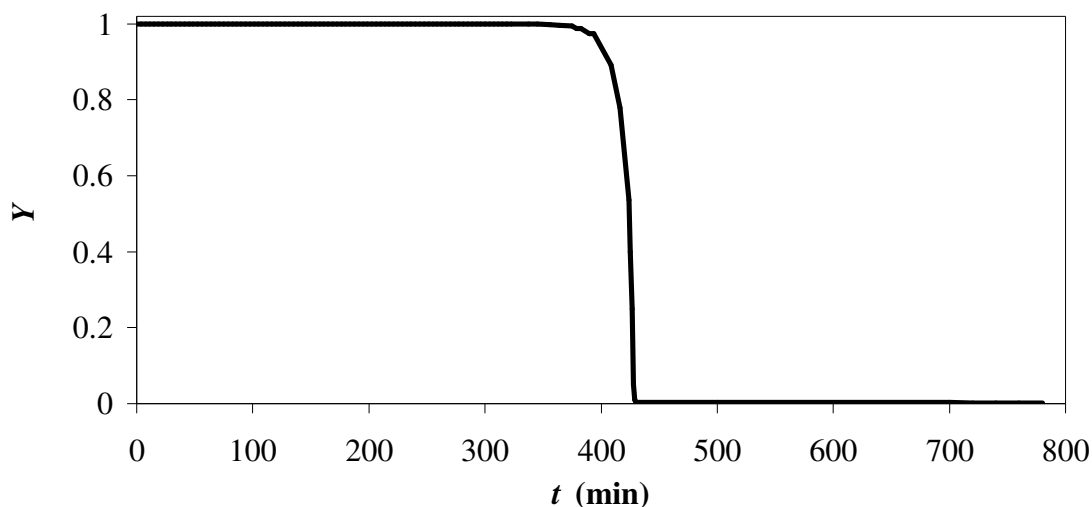


Figura 22. Curva de eluição para a SFE de grainha sem tratamento (ver condições experimentais na Tabela 7).

IV.4. Determinação do perfil de triacilglicerídeos do óleo extraído

Neste trabalho, para avaliar a qualidade das diferentes amostras de óleo recolhidas, determinou-se a sua composição em triacilglicerídeos. Na Figura 23 apresenta-se um exemplo de um cromatograma do óleo extraído via Soxhlet, com grainha sujeita ao pré-tratamento de alta pressão a 1000 bar. Na Tabela 8 listam-se os diferentes tempos de retenção para cada um dos componentes. Os tempos de retenção para cada componente foram determinados através da análise de um cromatograma em que se preparou uma mistura de padrões, incluindo o padrão interno (C17:0), utilizados na quantificação de ácidos gordos presentes no óleo de grainha de uva. Os demais cromatogramas obtidos não são apresentados neste trabalho por serem muito semelhantes a este. Remeteu-se para o Apêndice a análise detalhada do cromatograma da Figura 23.

Na Tabela 9 apresentam-se as percentagens de triacilglicerídeos totais presentes nas diferentes amostras de óleo de grainha de uva estudadas, sendo possível observar que tomam sempre valores elevados (>92%). Verifica-se que a amostra de óleo comercial apresenta o valor mais elevado (~97%) e que as amostras de óleo em que grainhas foram sujeitas ao pré-tratamento com alta pressão (HPP) apresentam o valor mais baixo (~92%).

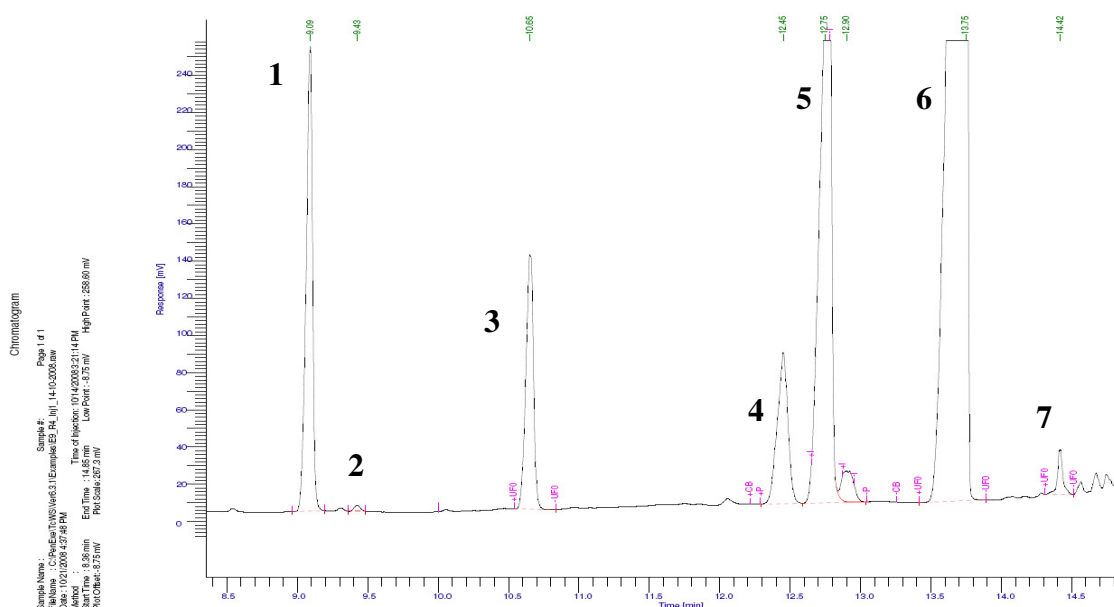


Figura 23. Cromatograma de uma amostra óleo de grainha de uva extraído via Soxhlet, em que a grainha foi sujeita a HPP (1000 bar; 15 min), analisado por GC-FID. (1 - Ácido palmítico, 2 - Ácido palmitoleico, 3 - Ácido margárico (Padrão Interno), 4 - Ácido esteárico, 5 - Ácido oleico, 6 - Ácido linoleico, 7 - Ácido linolénico.

Tabela 8. Tempos de retenção para os diferentes ésteres metílicos dos ácidos gordos transesterificados.

Pico	Tempo de Retenção (min)	Designação Abreviada	Nome comum
1	9.09	C16:0	Ácido palmítico
2	9.43	C16:1	Ácido palmitoleico
3	10.65	C17:0	Ácido margárico (PADRÃO INTERNO)
4	12.45	C18:0	Ácido esteárico
5	12.75	C18:1	Ácido oleico
6	13.75	C18:2	Ácido linoleico
7	14.42	C18:3	Ácido linolénico

Tabela 9. Percentagens de triacilglicerídeos totais presentes nas diferentes amostras de óleo de grainha de uva estudadas.

Origem do óleo de grainha de uva	Total de triacilglicerídeos (% m/m)				
	<i>Réplica</i>			Valor médio	σ
	I	II	III		
Comercial	97.56	97.13	97.35	97.35	0.22
Soxhlet sem HPP	99.05	93.23	96.14	96.14	2.91
SFE sem HPP	95.21	---	---	95.21	---
HPP (1000 bar) + Soxhlet	92.81	92.02	92.41	92.41	0.40
HPP (1000 bar) + SFE	93.44	91.65	92.55	92.55	0.90

Para além dos triacilglicerídeos totais presentes nas diferentes amostras de óleo, determinou-se também a concentração individual dos ácidos gordos identificados como ésteres metílicos dos triacilglicerídeos obtidos por transesterificação. Na Figura 24 é possível verificar que a qualidade dos vários óleos analisados é praticamente idêntica, dado que os perfis de triacilglicerídeos são muito semelhantes entre si, com excepção do óleo comercial que apresenta um teor em ácido oleico cerca de 6% superior ao das restantes amostras. É evidente da figura que o óleo de grainha de uva tem uma composição maioritária em ácidos gordos insaturados (~80%). Das Figuras 23 e 24 é bem notório que os ácidos oleico (C18:1) e linoleico (C18:2) são os mais abundantes (17-24%, e 60-66%, respectivamente) e que o segundo é o predominante. O ácido linolénico (0.4-0.7%, C18:3) foi identificado em pequena percentagem, assim como traços do ácido palmitoleico (<0.1%, C16:1). Identificaram-se outros ácidos gordos, mas em muito menor quantidade. No que concerne a ácidos gordos saturados, identificaram-se o ácido palmítico (6-8%, C16:0) e o ácido esteárico (4-5%, C18:0).

Relativamente ao impacto dos métodos de extracção utilizados – Soxhlet ou SFE – pode concluir-se que não alteram de forma significativa a composição e a concentração do óleo em triacilglicerídeos. A aplicação do tratamento de alta pressão antes do Soxhlet ou de uma SFE com CO₂, também não afecta sensivelmente a qualidade do óleo.

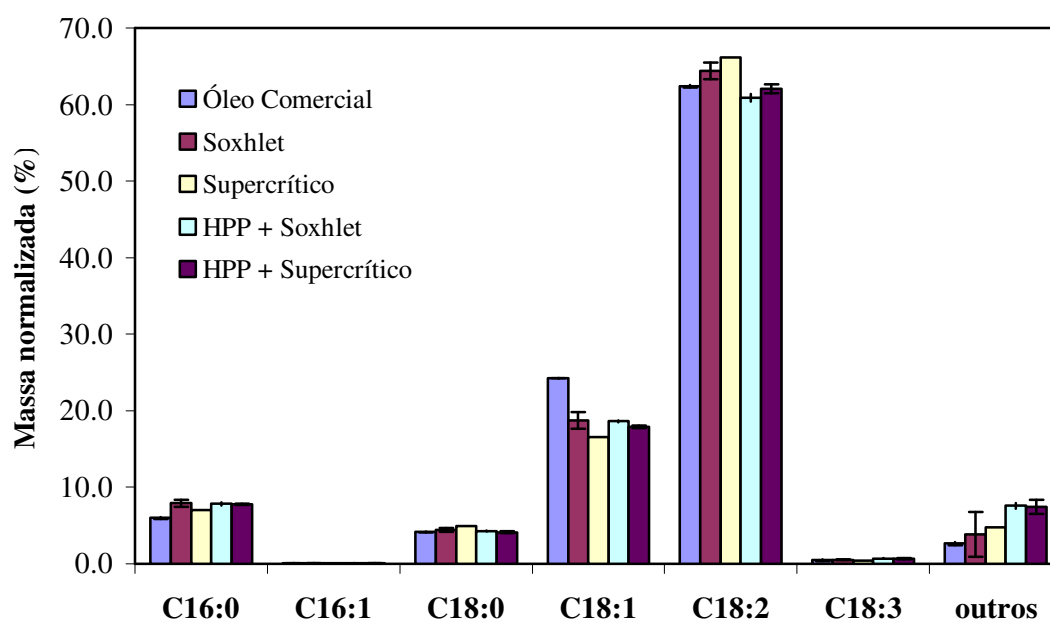


Figura 24. Percentagens de ácidos gordos identificados como ésteres metílicos dos triacilglicerídeos dos diferentes óleos de grainha de uva, obtidos por transesterificação.

V. CONCLUSÕES

O objectivo fundamental desta dissertação foi efectuar a extracção supercrítica de óleo de grainha de uva com dióxido de carbono, fazendo-se a avaliação do rendimento da separação e da qualidade óleo obtido em termos da composição e concentração em triacilglicerídeos. Para além disso realizaram-se pré-tratamentos da grainha de uva a pressão elevada (de 1000 a 5000 bar) para averiguar a sua influência sobre o rendimento global do processo.

O efeito da granulometria da semente moída sobre o rendimento da extracção foi estudado com diâmetros médios de partícula de 0.85 e 0.75 mm, tendo-se observado que esta diminuição de 13% em d_p eleva a remoção do óleo em 42%.

Relativamente ao efeito do HPP sobre o rendimento final da extracção, verificou-se que este não é sensivelmente alterado para tratamentos na gama de 1000 a 3000 bar, embora a 5000 bar se tenha registado uma redução de 6.7%.

As extracções supercríticas realizadas a 40 °C e 180 bar com amostras de grainha tratada e não tratada a pressão elevada permitiram concluir que a SFE é um processo eficaz para a remoção deste óleo, pois obtiveram-se rendimentos equivalentes aos do Soxhlet com *n*-hexano. Os valores atingidos foram: $\eta(\text{com HPP}, d_p = 0.85 \text{ mm}) = 6.95\%$ e $\eta(\text{sem HPP}, d_p = 0.75 \text{ mm}) = 11.47\%$.

As curvas cumulativas de extracção medidas nos dois casos apresentaram os dois períodos típicos referidos na literatura: um primeiro, aproximadamente linear, controlado pela convecção no filme, onde se extraiu 90-92% do óleo disponível e um segundo

período, controlado pela difusão interna do óleo nas partículas, com menor impacto no rendimento final (8-10%) que tendeu para um patamar.

Comparando os primeiros períodos de extracção das duas SFE realizadas, constatou-se que a experiência conduzida com grainha pré-tratada a 1000 bar exibiu uma taxa de extracção 39.7% superior. Este facto permitiu concluir que, embora o HPP não afecte o rendimento final da extracção, a velocidade do processo é significativamente melhorada, permitindo reduzir o tempo necessário para remover a mesma quantidade de óleo. Este aspecto reveste-se de um particular interesse na perspectiva de uma futura implementação industrial.

A modelação dos resultados experimentais foi feita com base nos trabalhos de Perrut et al. (1997) e Sovová (2005). No essencial, assume-se que a grainha moída apresenta células rompidas mais periféricas, cujo óleo está facilmente acessível ao solvente, e células intactas onde a extracção compreende um processo de transporte difusional e convectivo em série. A correlação dos pontos obtidos nas duas SFEs traduz muito bem os dois ramos de $\eta(t)$ e, atendendo à complexidade dos fenómenos envolvidos nesta matriz natural, os erros absolutos médios calculados ($AAD_{c/HPP} = 2.36\%$ e $AAD_{s/HPP} = 2.72\%$) podem considerar-se muito bom. Os perfis de concentração no leito foram também determinados e concluiu-se que as zonas de transferência de massa correspondiam a 7.2% (sem HPP) e a ~4.9% (com HPP) do comprimento total do leito, tomando-se para referência os valores de 5% e 95% da concentração inicial. Os tempos estequiométricos calculados foram 421 min e 196 min, respectivamente, o que significa que as velocidades de propagação das ondas de concentração através do leito foram 96 e 35 vezes superiores ao tempo de passagem do CO₂.

Por fim, no que concerne à qualidade do óleo de grainha de uva extraído, as análises de cromatografia em fase gasosa (de amostras previamente transesterificadas) mostraram que ele continha mais de 92% de triacilglicerídeos. Em termos de composição confirmou-se que é um óleo rico em ácidos gordos insaturados (~80%), sendo os ácidos oleico (C18:1) e linoleico (C18:2) os mais abundantes (17-24% e 60-66%, respectivamente).

VI. BIBLIOGRAFIA

- Aued-Pimentel, S.; Lago, J. H. G.; Chaves, M. H.; Kumagai, E. E. (2004) Evaluation of a methylation procedure to determine cyclopropenoids fatty acids from *Sterculia striata* St. Hil. Et Nauds seed oil. *Journal of Chromatography A*, 1054, 235-239.
- Azevedo, E. (2005) Tecnologia Supercrítica: Passado, Presente, Futuro. *Boletim da SPQ*, 36-39.
- Bail, S.; Stuebiger, G.; Krist, S.; Unterweger, H.; Buchbauer, G. (2007) Characterisation of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 108, 21-33.
- Basak, S.; Ramaswamy, H.S. (1996). Ultra High Pressure treatment of orange juice: a kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase. *Food Research International*, 29, 601-607.
- Belitz, H.D.; Grosch, W. (1999) Food chemistry, 2ª Ed.: Springer, Berlin.
- Brunner, G. (1994) Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes. NY: Steinkopff Darmstadt.
- Brunner, G. (2005) Supercritical fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering*, 67, 21-33.
- Cagniard de LaTour, C. (1822) *Annual Chim. Physics*, 21, 127-132, 178-182.
- Cao, X.; Ito, Y. (2003) Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1021, 117-124.
- Castro, S.M.; Van Loey, A.; Saraiva, J.A.; Smout, C.; Hendrickx, H. (2006) Inactivation of pepper (*Capsicum annuum*) pectin methylesterase by combined high-pressure and temperature treatments. *Journal of Food Engineering*, 75, 50-58.
- Cheftel, J.C. (1995) Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1, 75-90.
- Cook, Steve (2007), http://www.steve.gb.com/science/lipids_and_membranes.html
- Debenedetti, P.G.; Chialvo, A. (1992) Solute-Solute Correlations in Infinitely Dilute Supercritical Mixtures. *Journal of Chemical Physics*, 97, 504-507.
- Dobbs, J. M.; Wong, J. M.; Lahiere, R. J.; Johnston, K. P. (1987) Modification of Supercritical Fluid Phase Behavior Using Polar Cosolvents. *Industrial &*

- Engineering Chemistry Research*, 26, 56-65.
- Dominguez, H.; Sineiro, J.; Núñez, M.J.; Lema, J. (1994) Enzymatic pretreatment to enhance oil extraction from fruits and oilseeds: a review. *Food Chemistry*, 49, 271-286.
- Fenghour, A.; Wakeham, W.A.; Vesovic, V. (1998) The viscosity of carbon dioxide. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 27, 31-44.
- Fiori, L. (2007) Grape seed oil supercritical extraction kinetic and solubility data: Critical approach and modelling. *Journal of Supercritical Fluids*, 43, 43-54.
- Froment, G. F.; Bischoff, K. B. (1979) *Chemical Reactor – Analysis and Design*, JWS, Belgium.
- Gomez, A.M.; Lopez, C. P.; De la Ossa, E.M. (1996). Recovery of grape seed oil by liquid and supercritical carbon dioxide extraction: A comparison with conventional solvent extraction. *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal*, 61, 227-231.
- ISEO (2006), <http://www.iseo.org/foodfats.htm>
- IUPAC (1987) *Standard methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives. IUPAC Method 2.301; Report of IUPAC Working Group WG 2/87*. 7th ed.; Blackwell Scientific Publications.
- Langstraat, A. (1976) Characteristics and composition of vegetable oil-bearing materials. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 53, 242-243.
- LCSG (2001), <http://www.chem.leeds.ac.uk/People/CMR/index.html>
- Ludikhuyze, L.; Van Loey, A.; Indrawati, S. C.; Hendrickx, M. (2003) Effects of combined pressure and temperature on enzymes related to quality of fruits and vegetables: From kinetic information to process engineering aspects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 527-586.
- Luque-Rodríguez, J.M.; Luque de Castro, M.D.; Pérez-Juan, P. (2005) Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Talanta*, 68, 126-130.
- Marr, R.; Gamse, T. (2000) Use of supercritical fluids for different processes including new developments - a review. *Chemical Engineering and Processing*, 39, 1-28.
- NIST (2000), <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
- O'Brien, R.D. (1998) *Fats and Oils-Formulating and Processing for Applications*. Technomic Publishing Company Inc.: Lancaster, PA.
- Passos, C.P.; Silva, R.M.; Silva, F. A.; Coimbra, M.A.; Silva, C. M. (2008) Enhancement of the Supercritical Fluid Extraction of Grape Seed Oil by using Enzymatically Pre-treated Seed. *Journal of Supercritical Fluids*, doi: 10.1016/j.supflu.2008.11.001.
- Perrut, M.; Clavier, J.Y.; Poletto, M.; Reverchon R. (1997) Mathematical modeling of sunflower seed extraction by supercritical CO₂. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 36, 430-435.
- Ponte, M. (1995) Fluidos Supercríticos: Os Solventes “Verdes”. DSpace at FCTUNL – Revista de cultura científica.
- Povh, N.P., Marques, M.O.M., Meireles, M.A.A. (2001) Supercritical CO₂ extraction of essential oil and oleoresin from chamomile (*Chamomilla recutita* [L.] Rauschert). *Journal of Supercritical Fluids*, 21, 245-256.
- Rao, P. U. (1994) Nutrient composition of some less-familiar oil seeds. *Food Chemistry*, 50, 379-382.
- Rastogi, N.K.; Raghavarao, K.; Balasubramaniam, V.M.; Niranjan, K.; Knorr, D. (2007). Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical*

- Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 69-112.
- Reid, R. C.; Prausnitz J. M.; Polling, B.E. (1988) The properties of Gases and Liquids. Fourth edition, New York: McGraw-Hill.
- Reverchon, E.; Donsì, G.; Sesti Osséo, L. (1993) Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 32, 2721-2726.
- Reverchon, E. (1997) Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. *Journal of Supercritical Fluids*, 10, 1-37.
- Reverchon, E.; Marrone, C. (2001) Modeling and simulation of the supercritical CO₂ extraction of vegetable oils. *Journal of Supercritical Fluids*, 19, 161-175.
- Reverchon, E.; De Marco, I. (2006) Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter – Review. *Journal of Supercritical Fluids*, 38, 146-166.
- Rizvi, S.S.H.; Daniels, J.A.; Benado, A.L.; Zollweg, J.A. (1986) Supercritical fluid extraction: Operating principles and food applications. *Food Technology*, 40, 57-64.
- Rosenthal, A.; Pyle, L.D.; Niranjan, K. (1996) Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction - review. *Enzyme and Microbial Technology*, 19, 402-420.
- Russell A. J., Beckman E. J. (1991) Enzyme activity in supercritical fluids. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 31, 197-202.
- Saraiva, J.; Vitorino, R.; Nunes, C.; Coimbra, M.A. (2002) Effect of high pressure treatments on protease and beta-galactosidase activities of table olives. *High Pressure Research*, 22, 669-672.
- Saraiva, J. (2008) Comunicação Interna Privada. Universidade de Aveiro, Portugal.
- Schiesser, W. E. (1994) Computational Mathematics in Engineering and Applied Science: ODEs, DAEs, and PDEs. *CRC Press*, Boca Raton.
- Smelt, J. P. P. (1998) Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 152-158.
- Sovová, H. (2005). Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. *Journal of Supercritical Fluids*, 33, 35-52.
- Temelli, F. (1992) Extraction of triglycerides and phospholipids from canola with supercritical carbon dioxide and ethanol. *Journal of Food Science*, 57, 440-443.
- Tonthubthimthong, P.; Chuaprasert, S.; Douglas, P.; Luewisutthichat, W. (2001) Supercritical CO₂ extraction of nimbin from neem seed - an experimental study. *Journal of Food Engineering*, 47, 289-293.
- Valle, J.M.; Aguilera, J.M. (1988) An improved equation for predicting the solubility of vegetable oils in supercritical CO₂. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 27, 1551-1553.
- Yaldagard, M.; Mortazavi, S. A.; Tabatabaie, F. (2008) The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *African Journal of Biotechnology*, 7, 2739-2767.

VII. APÊNDICE

Encontram-se compilados neste apêndice a informação e os dados seguintes:

- (i) Distribuições de tamanhos de partícula das amostras de grainha de uva cujos diâmetros médios são 0.75 mm (Tabela A.1) e 0.85 mm (Tabela A.2). A primeira foi utilizada nas experiências de Soxhlet e SFE; a segunda grainha foi usada nas experiências de HPP, Soxhlet e SFE.
- (ii) Dados experimentais das curvas cumulativas de extracção obtidas (Tabelas A.3 e A.4).
- (iii) Dados gravimétricos obtidos nas experiências de Soxhlet realizadas com grainha tratada e não tratada (Tabelas A.5 e A.6).
- (iv) Resultados correspondentes à análise do cromatograma da Figura 23 (Tabelas A.7 e Tabela A.8).

Tabela A.1. Distribuição do tamanho de partícula das amostras de grainha de uva moída correspondentes a um valor médio de 0.75 mm.

d_p (mm)	m_{grainha} (g)	% (w/w)	$d_{p,\text{Sauter}}$ (mm)
< 0.500	118.9	6.61	0.75
0.500 - 0.600	70.7	3.93	
0.600 - 0.710	109.1	6.06	
0.710 - 1.00	1121.8	62.34	
1.00 - 2.00	378.9	21.06	
m_{Total} (g)	1799.4		

Tabela A.2. Distribuição do tamanho de partícula das amostras de grainha de uva moída correspondentes a um valor médio de 0.85 mm.

d_p (mm)	m_{grainha} (g)	% (w/w)	$d_{p,\text{Sauter}}$ (mm)
< 0.710	93.5	13.93	0.85
0.710 - 1.00	175.3	26.13	
1.00 - 1.40	358.4	53.41	
1.40 - 2.00	43.8	6.53	
m_{Total} (g)	671.0		

Tabela A.3. Curva de extração supercrítica para a amostra de grainha com $d_p = 0.75$ mm (ver condições operatórias na Tabela 7).

t (min)	$m_{\text{óleo cumulativa}}$ (g)	$\eta_{\text{Experimental}}$ (%)
0	0.000	0.00
60	1.030	1.60
120	1.855	2.88
180	3.028	4.70
240	4.024	6.25
300	5.174	8.03
360	6.139	9.53
420	6.820	10.59
480	7.219	11.21
540	7.297	11.33
600	7.367	11.44
660	7.380	11.46
720	7.386	11.47
780	7.386	11.47

Tabela A.4. Curva de extração supercrítica para a amostra de grainha com $d_p = 0.85$ mm e submetida a HPP de 1000 bar durante 15 min (ver condições operatórias na Tabela 7).

t (min)	$m_{\text{óleo cumulativa}}$ (g)	$\eta_{\text{Experimental}}$ (%)
0	0.000	0
60	1.213	1.8800
80	1.569	2.4300
140	3.160	4.8900
200	4.087	6.3200
260	4.325	6.6900
320	4.468	6.9100
380	4.477	6.9300
440	4.490	6.9500
500	4.490	6.9500

Tabela A.5. Resultados da extração em Soxhlet (20 h com *n*-hexano) obtidos para amostras de grainha com HPP.

		$m_{\text{grainha seca}}$ (g)	$m_{\text{óleo}}$ (g)	η_i % (w/w)
$d_{p,\text{Sauter}} = 0.85\text{mm}$	HPP	1000 bar	56.721	0.3811
		3000 bar	55.644	0.3738
		5000 bar	55.505	0.3481

Tabela A.6. Resultados da extração em Soxhlet (4 h com *n*-hexano) obtidos para amostras de gralha com e sem HPP.

	Réplica	$m_{\text{gralha seca}} \text{ (g)}$	$m_{\text{óleo}} \text{ (g)}$	$\eta_i \text{ \% (w/w)}$	$\eta \text{ \% (w/w)}$	$\sigma \text{ \% (w/w)}$
$d_{p, \text{Sauter}} = 0.75 \text{ mm}$	I	91.642	10.532	11.49	11.59	0.10
	II	91.996	107.578	11.69		
	II	90.501	104.731	11.57		
	I	122.280	0.8254	6.75	6.72	0.03
	II	125.862	0.8433	6.70		
	III	55.507	0.3729	6.72		
	I	122.347	0.7976	6.52	6.54	0.02
	II	122.299	0.8018	6.56		
	III	56.528	0.3693	6.53		
$d_{p, \text{Sauter}} = 0.85 \text{ mm}$	I	152.354	0.9792	6.43	6.43	0.03
	II	152.327	0.9842	6.46		
	II	56.772	0.3629	6.39		
	I	57.599	0.3325	5.77	5.78	0.02
	II	151.925	0.8812	5.80		
	III	152.043	0.8758	5.76		

Tabela A.7. Resultados obtidos da análise GC-FID de uma amostra de óleo de grão de soja pré-tratada (HPP: 1000 bar, 15 min) (Figura 23) extraído via Soxhlet

Factor de Resposta = 1							
Pico	Designação Abreviada	Tempo de Retenção (min)	Ac	Ac /API	Mc/MPI	Massa de composto na amostra (mg)	Massa normalizada de composto presente na amostra (%)
1	C16:0	9.09	794114.45	1.55	1.55	10.27	8.05
2	C16:1	9.43	9773.23	0.02	0.02	0.13	0.10
3	C17:0	10.65	512851.80	→ API			
4	C18:0	12.45	426965.99	0.83	0.83	5.52	4.33
5	C18:1	12.75	1823616.34	3.56	3.56	23.59	18.48
6	C18:2	13.75	5962381.65	11.63	11.63	77.13	60.42
7	C18:3	14.42	64337.58	0.13	0.13	0.83	0.65
						117.47	92.02
						Massa total (mg)	Massa normalizada total (%)

Tabela A.8. Dados referentes à amostra de óleo e de Padrão Interno usado nas análises em GC-FID.

	Óleo	Padrão Interno (C17:0)
Concentração (mg/mL)	-	1.327
Volume introduzido na amostra (mL)	-	5.00
Massa introduzida na amostra (mg)	127.66	6.63