



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**



**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS SEMENTES DE  
URUCUM UTILIZANDO TECNOLOGIAS COMBINADAS**

**THIAGO TAHAM**

Uberlândia – MG

2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**



## **EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS SEMENTES DE URUCUM UTILIZANDO TECNOLOGIAS COMBINADAS**

Thiago Taham

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antonio de Souza Barrozo

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química

Uberlândia – MG  
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
(CIP) Sistema de Bibliotecas da UFU, MG,  
Brasil.

---

T128e      Taham, Thiago, 1983-  
2015      Extração de compostos bioativos das sementes de urucum utilizando  
tecnologias combinadas / Thiago Taham. - 2015.  
144 f. : il.

Orientador: Marcos Antonio de Souza Barrozo.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa  
de Pós-Graduação em Engenharia Química.  
Inclui bibliografia.

1. Engenharia química - Teses. 2. Urucum - Semente - Teses. 3.  
Compostos bioativos - Teses. 4. Processo de leito de jorro - Teses. I.  
Barrozo, Marcos Antonio de Souza. II. Universidade Federal de  
Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III.  
Título.

---

CDU: 66.0



TESE SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO  
TÍTULO DE DOUTOR EM ENGENHARIA QUÍMICA.

BANCA EXAMINADORA



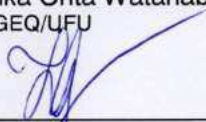
Prof. Dr. Marcos Antonio de Souza Barrozo  
Orientador (PPGEQ/UFU)



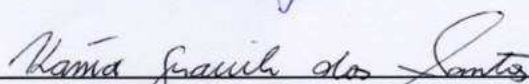
Prof. Dr. Cláudio Roberto Duarte  
PPGEQ/UFU



Profª. Drª. Érika Ohta Watanabe  
PPGEQ/UFU



Prof. Dr. Luiz Gustavo Martins Vieira  
PPGEQ/UFU



Profª. Drª. Kássia Graciele dos Santos  
PPGMQ/UFTM



Profª. Drª. Maria do Carmo Ferreira  
DEQ/UFSCar

“Isto é o que desejo para o meu orador: quando se informa que ele vai falar, deixe que cada lugar nos bancos seja ocupado, que a sala de julgamento esteja repleta, uma multidão de ouvintes acudindo aos poucos e o juiz que preside a sessão ereto e atento. Quando o orador se levantar, toda a multidão se silencia; então, expressões de aprovação; aplausos frequentes; risadas, quando ele assim o desejar; ou, se ele quiser, lágrimas; de tal forma que um mero passante, observando a distância, embora totalmente alheio à matéria em questão, reconhecerá que o orador faz sucesso e que um Róscio está no palco.”

Dedico este trabalho aos meus familiares que sempre acreditaram no poder transformador da educação na vida de um indivíduo.

## *Agradecimentos*

Agradeço...

À família, pelos bons exemplos e pelo aconchego com que sempre sou recebido.

Aos orientadores deste trabalho pelo tempo investido, pelos ensinamentos e por me mostrarem que o conhecimento é um caminho, e não um fim.

Aos membros da banca que enxergaram o meu trabalho sob diferentes perspectivas, enriquecendo sobremedida o resultado final.

À direção e colegas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro, pela liberação necessária para conclusão desta etapa e pela parceria no trabalho executado.

À CAPES, FAPEMIG e CNPQ pelo financiamento de várias partes deste trabalho, entre materiais, insumos, publicações e viagens.

Ao companheiro de jornada que sempre esteve comigo, nos bons e maus momentos.

Aos amigos extraianos de Campinas – SP. Sem o conhecimento compartilhado e toda a ajuda oferecida, eu não teria conquistado tantos bons resultados.

Aos amigos de toda uma vida em Campinas, tanto pelas hospedagens quanto pelo consolo quando muitas coisas não iam bem. Vocês fazem parte da minha história.

Aos amigos e colegas do LPD. As trocas de informações, viagens, conversas e risos fizeram com que a travessia, apesar de penosa, ficasse mais leve e divertida.

Às melhores alunas de IC e PG que eu poderia desejar, vocês foram um ensinamento de dedicação e competência.

À mais completa turma de amigos que eu jamais imaginei encontrar. Nessa cidade vocês formam a minha família, com todas as diferenças e amor que possa existir.

Um trabalho da magnitude de uma tese de doutorado exige vários pequenos pedaços juntos que, uma vez unidos, formam um todo. Pequenas contribuições, aparentemente não representativas, fizeram toda a diferença quando olho para o resultado final. Me lembro de cada encontro, conselho, ajuda, sorriso, advertência, discussão, questionamento e palavra de motivação que me fez chegar até aqui. Sem vocês eu não teria conseguido. De coração, o meu muito obrigado.



## Sumário

RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
CAPÍTULO 1 .....	1
INTRODUÇÃO .....	1
CAPÍTULO 2 .....	7
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	7
2.1 O Urucum.....	7
2.2. Principais utilizações do urucum.....	8
2.3 Compostos Bioativos .....	10
2.3.1 A Bixina.....	10
2.3.2 Os Tocotrienóis.....	12
2.3.3 O Geranilgeraniol .....	13
2.4 Legislação.....	13
2.5 O Urucum como Alimento Funcional.....	15
2.6 Métodos de extração da bixina das sementes de urucum.....	17
2.6.1 A Extração Supercrítica.....	19
2.6.2 O Leito de Jorro.....	24
2.7 As técnicas de otimização e superfície de respostas .....	31
CAPÍTULO 3 .....	35
MATERIAL E MÉTODOS .....	35
3.1 Caracterização das Sementes de Urucum.....	35
3.1.1 Caracterização Física das Sementes .....	35
3.1.2 Caracterização Química das Sementes .....	36
3.2 Extração Convencional da Bixina.....	38
3.3 Extração em Leito Fixo.....	39
3.3.1 A Unidade Experimental .....	39
3.3.2 O Procedimento Experimental.....	42
3.3.3 Respostas Experimentais .....	48
3.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	49
3.4 Fracionamento dos extratos.....	50
3.4.1 A Unidade Experimental .....	50

3.4.2 O procedimento Experimental.....	52
3.5 Extração Mecânica utilizando Leito de Jorro.....	54
3.5.1 A Unidade Experimental .....	54
3.5.2 O Planejamento Experimental .....	55
3.5.3 O procedimento Experimental.....	57
3.5.4 Otimização da Extração usando Evolução Diferencial (ED) .....	57
3.6 A extração Sequencial em Leito Fixo .....	59
CAPÍTULO 4 .....	61
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
4.1 Caracterização das Sementes de Urucum.....	61
4.1.1 Caracterização física das sementes.....	61
4.1.2 Caracterização química das sementes de urucum.....	62
4.2 Extração utilizando Tecnologias Combinadas .....	64
4.2.1 Extração em Etapa Única .....	64
4.2.2 Extração sequencial .....	67
4.2.3 Extração Sequencial Adaptada .....	69
4.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	72
4.2.5 Caracterização do Óleo de Urucum.....	76
4.3 Fracionamento dos extratos.....	77
4.4 Extração Utilizando o Leito de jorro.....	81
4.4.1 As Curvas Características.....	81
4.3.2 Planejamento Experimental.....	85
4.3.3 Otimização da Extração usando Evolução Diferencial (ED) .....	94
3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	97
4.5 As extrações sequenciais em leito de jorro e etanólicas em leito fixo .....	100
CAPÍTULO 5 .....	103
CONCLUSÕES.....	103
SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....	107
REFERÊNCIAS.....	109

## Índice de Figuras

Figura 1.1 (a) O urucuzeiro e (b) as sementes de urucum no fruto (EMEPA, 2012).....	1
Figura 1.2. Evolução da produção de urucum no Brasil (IBGE, 2014) .....	2
Figura 1.3 Produção mundial de urucum (toneladas) em 2015 (CARVALHO, 2015)....	2
Figura 1.4. Evolução do preço das sementes de urucum no Brasil (IBGE, 2014) .....	3
Figura 2.1 (a) Cachopa de urucum, (b) Semente inteira e em corte (CARVALHO, 2015).....	7
Figura 2.2. A bixina e a norbixina. ....	10
Figura 2.3. Diferentes tipos de pigmentos do urucum (HENRY, 1996) .....	11
Figura 2.4. Estrutura geral dos tocotrienóis.....	12
Figura 2.5. Estrutura geral do geranilgeraniol.....	13
Figura 2.6. Regiões características do Leito de Jorro (BERNOCCO et al., 2013).....	25
Figura 2.7. Curva característica de um leito de jorro (CUNHA, 2008). ....	27
Figura 3.1. Extração convencional da bixina do urucum .....	39
Figura 3.2. Desenho Esquemático da Unidade de Extração Supercrítica utilizada.....	40
Figura 3.3. Extrator utilizado no leito fixo .....	41
Figura 3.4. A unidade experimental utilizada em extrações em leito fixo .....	41
Figura 3.5. Diagrama esquemáticos das extrações realizadas .....	43
Figura 3.6. Desenho esquemático do fracionador de extratos .....	50
Figura 3.7. Detalhes do fracionador de extratos .....	51
Figura 3.8. Separadores pertencentes ao fracionador .....	51
Figura 3.9. Diagrama esquemático da unidade experimental de leito de jorro .....	54
Figura 4.1. Sementes de urucum após extração (a) aquosa. (b) clorofórmio. ....	63
Figura 4.2. Extratos de urucum obtidos com água (a) e clorofórmio (b) .....	63
Figura 4.3. Cinéticas de extração em etapa única – Lote 1 .....	65
Figura 4.4. Cinéticas de extração em etapa única – Lote 2 .....	67
Figura 4.5. Extratos obtidos em extração sequencial .....	68
Figura 4.6. Cinéticas de extrações sequenciais – Lote 1 .....	69
Figura 4.7. Cinéticas de extrações sequenciais adaptadas – Lote 1 .....	70
Figura 4.8. Cinéticas de extrações sequenciais adaptadas – Lote 2 .....	71
Figura 4.9. Semente de urucum intacta – aumento (a) 45 X e (b) 1000 X.....	73
Figura 4.10. semente desengordurada. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X. ....	73
Figura 4.11. Semente de urucum após extração com CO <sub>2</sub> e etanol. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.....	74
Figura 4.12. Semente de urucum após extração sequencial. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X. ....	74
Figura 4.13. Semente de urucum após extração etanólica a baixa pressão. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.....	75

Figura 4.14. Semente de urucum após extração etanol-H <sub>2</sub> O a baixa pressão. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.....	75
Figura 4.15. Diferentes extratos obtidos no fracionador (a) e detalhe de um dos separadores (b).....	78
Figura 4.16. Curva característica para Ms = 1,5 kg.....	82
Figura 4.17. Curva característica para Ms = 1,7 kg.....	83
Figura 4.18. Curva característica para Ms = 2,0 kg.....	83
Figura 4.19. Curva característica para Ms = 2,3 kg.....	84
Figura 4.20. Curva característica para Ms = 2,5 kg.....	84
Figura 4.21. Sementes após extração (ensaio 14) usando leite de jorro.....	87
Figura 4.22. Cinética de Obtenção do pó .....	88
Figura 4.23. Cinética de extração da bixina .....	88
Figura 4.24. Superfície de resposta para a Massa de pó.....	90
Figura 4.25. Superfícies de resposta para a produção de pó.....	91
Figura 4.26. Superfície de resposta para massa de bixina .....	92
Figura 4.27 (a,b). Superfícies de resposta para a produção de bixina .....	92
Figura 4.28. Superfície de resposta para a porcentagem de bixina no pó .....	93
Figura 4.29 (a,b) Superfícies de resposta para pureza do pó (% de bixina) .....	94
Figura 4.30. Estrutura da semente intacta. Aumento de 46x (a) e 1000x (b).....	97
Figura 4.31. Estrutura da semente após extração caso 1. Aumento de 46x (a) e 1000x (b) .....	98
Figura 4.32. Estrutura da semente após extração caso 2. Aumento de 46x (a) e 1000x (b) .....	98
Figura 4.33. Estrutura da semente após a corrida 10. Aumento de 46x (a) e 1000x (b) .....	99
Figura 4.34. Estrutura da semente após a corrida 14. Aumento de 46x (a) e 1000x (b) .....	99
Figura 4.35 Cinética de extração de pó – extração sequencial.....	101
Figura 4.36. Cinética da obtenção de bixina – extração sequencial.....	101

## Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Composição das sementes de urucum (CARVALHO, 1991) .....	8
Tabela 2.2. Os extratos de urucum e suas aplicações (STRINGHETA; SILVA, 2008) ..	9
Tabela 2.3. Propriedades da bixina e norbixina (STRINGHETA; SILVA, 2008).....	11
Tabela 2.4 Propriedades físicas ligadas ao estado da matéria (ROZZI; SINGH, 2002). 20	
Tabela 2.5. Propriedades críticas de solventes utilizados na extração supercrítica (ROZZI; SINGH, 2002). .....	21
Tabela 2.6. Solubilidade de compostos em CO <sub>2</sub> supercrítico (ROZZI; SINGH, 2002). 21	
Tabela 3.1. Amostragem das extrações cinéticas .....	44
Tabela 3.2. Extrações com um único solvente – Lote 1 .....	44
Tabela 3.3. Extrações com um único solvente – Lote 2 .....	45
Tabela 3.4. Extrações sequenciais – Lote 1 .....	45
Tabela 3.5. Extrações Sequenciais adaptadas – Lote 1 .....	47
Tabela 3.6 Extrações sequenciais adaptadas – Lote 2 .....	48
Tabela 3.7 Parâmetros operacionais dos experimentos de fracionamento - Lote 2 .....	53
Tabela 3.8. Planejamento experimental executado .....	56
Tabela 4.1. Caracterização física das sementes – Lote 02.....	61
Tabela 4.2. Caracterização química das sementes de urucum.....	62
Tabela 4.3. Extração convencional nas sementes de Urucum.....	62
Tabela 4.4. Resultados das extrações em etapa única (U) – Lote 1 .....	64
Tabela 4.5. Resultados das extrações em etapa única (U) – Lote 2 .....	66
Tabela 4.6. Resultados das extrações sequenciais (S) – Lote 1.....	68
Tabela 4.7. Resultados das extrações sequenciais adaptadas (SA) – Lote 1 .....	70
Tabela 4.8. Resultados das extrações sequenciais adaptadas (SA) – Lote 2 .....	71
Tabela 4.9. Caracterização em ácidos graxos de óleo de urucum .....	76
Tabela 4.10. Caracterização dos tocotrienóis (□g/mL) do óleo de urucum.....	77
Tabela 4.11. Dados de granulometria do pó de urucum. ....	78
Tabela 4.12. Resultados do fracionamento da extração com CO <sub>2</sub> supercrítico.....	79
Tabela 4.13. Teor de geranilgeraniol (%) nos separadores e matéria-prima .....	80
Tabela 4.14. Massa de geranilgeraniol (g) nos separadores e matéria-prima.....	80
Tabela 4.15. Respostas Experimentais .....	86
Tabela 4.16. Níveis preditos por ED .....	95
Tabela 4.17. Resultados Preditos e Experimentais em configurações otimizadas .....	95
Tabela 4.18. Parâmetros operacionais das extrações sequenciais .....	100
Tabela 4.19. Resultados das extrações sequenciais.....	100

## Lista de Símbolos

Símbolo	Nomenclatura	Unidade
A	Absorbância média de uma amostra	--
$A_p$	Área da partícula	mm <sup>2</sup>
$C_0$	Concentração mássica de bixina em uma amostra	%
$d_p$	Diâmetro da esfera de mesmo volume que a partícula	mm
$d_{mg}$	Diâmetro médio geométrico das partículas	mm
$d_i$	Diâmetro geométrico da partícula i	mm
E	Coefficiente de absorvidade	--
$H_a$	Altura do anteparo no interior do leito de jorro	cm
$M_s$	Massa de sementes	kg
$M_p$	Massa de pó obtido na extração	g
$M_b$	Massa de bixina obtida na extração	g
Q	Rendimento de bixina da extração	%
$Q_{jm}$	Vazão de jorro mínimo	m <sup>3</sup> /h
$Q/Q_{jm}$	Adimensional de vazão	--
R	Recuperação de bixina da extração	%
$V_p$	Volume da semente de urucum	mm <sup>3</sup>
$X_0$	Rendimento global de uma extração	%
$w_i$	Massa do material retido no peneiramento – peneira i	g

### Símbolos gregos

$\phi$	Esfericidade da partícula	--
$\rho_s$	Densidade das sementes	g/cm <sup>3</sup>

## RESUMO

A bixina é o carotenoide mais utilizado na indústria alimentícia. É tradicionalmente extraída das sementes de urucum por meio de soluções alcalinas, fricção em óleo vegetal aquecido ou por meio de solventes orgânicos. Estes métodos, além de exigirem uma operação unitária subsequente de separação da bixina, podem gerar resíduos tóxicos. Assim, a busca por soluções ambientalmente mais atrativas impulsiona o estudo de tecnologias alternativas, tais como a extração mecânica ou utilizando fluidos supercríticos. Este trabalho objetivou investigar a extração de compostos bioativos das sementes de urucum, com o foco na bixina, utilizando diferentes tecnologias. Foram estudadas extrações em leito fixo utilizando o CO<sub>2</sub> supercrítico, a água e o etanol em extrações únicas, sequenciais e combinadas. Também foi estudada a extração mecânica das sementes utilizando uma unidade adaptada de leito de jorro. A utilização de etanol à pressão ambiente (leito fixo) resultou no maior rendimento de bixina e nas mais altas porcentagens desta nos extratos obtidos, dentre as condições testadas. Por outro lado, o pré-tratamento das sementes, utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico resultou na extração inicial de óleo rico em  $\delta$ -tocotrienol e geranilgeraniol, com pouca interferência na obtenção de bixina por extração etanólica a baixa pressão em uma extração sequencial. O estudo experimental da extração mecânica em leito de jorro, por sua vez, resultou na extração do pó de urucum com teores de bixina variáveis, porém sempre comercialmente atrativos (acima de 30 % de bixina). Por meio da otimização, foram identificadas as condições que levaram às melhores eficiências de extração (para o pó e a bixina) e à maior pureza de pó obtido (acima de 65%). A combinação em extração sequencial das tecnologias estudadas, o leito de jorro e a extração etanólica em leito fixo, maximizou o rendimento da extração de bixina, aproximando-o do máximo rendimento obtido com a extração convencional usando clorofórmio. Este fato indica que as extrações sequenciais podem ser uma boa alternativa de processamento, permitindo o máximo aproveitamento do corante presente nas sementes em comparação com as tecnologias estudadas isoladamente.

**Palavras-chave:** Urucum, Leito de Jorro, Extração Supercrítica, Bixina.

## ABSTRACT

Bixin is the most used carotenoid in the food industry. It has been conventionally extracted from annatto seeds using alkaline solutions, organic solvents or friction in heated vegetable oil. These methods require a subsequent unit operation of bixin separation and can generate toxic waste. Thus, the demand for more environmentally attractive solutions leads to the study of the alternative extraction technologies, such as mechanical extraction or using supercritical fluids. This study aimed to investigate the extraction of bioactive compounds of the annatto seeds, with the focus on bixin, using different technologies. The extractions were conducted in a fixed bed using supercritical CO<sub>2</sub>, water and ethanol as solvents in conventional, sequential and combined extractions. The mechanical extraction of seeds in a screen-topped spouted bed unit was also studied, using tools of experimental design and process optimization in order to identify the conditions of the best extraction efficiency (for the powder and the bixin) and higher purity of the powder obtained. The use of ethanol at ambient pressure in the fixed bed extraction was responsible for the higher yields of bixin and the highest percentages of this compound in the extracts obtained, among all tested conditions. On the other hand, it could be noticed that the pretreatment of seed, using supercritical CO<sub>2</sub>, resulted in the extraction of an oil rich in  $\delta$ -tocotrienol and geranylgeraniol with low impact in the bixin yield obtained in a sequential extraction using ethanol at low pressure. The experimental study of mechanical extraction in a spouted bed unit, in turn, resulted in an annatto powder with variable contents of bixin, but always commercially attractive (over 30% of bixin). Using the optimization process, the conditions that led to the best extraction efficiency (for powder and bixin) and greater purity powder (above 65%) were identified. The combination of sequential extraction of the studied technologies, spouted bed and extraction in fixed bed using ethanol maximized the performance of bixin extraction, near the yield obtained with chloroform. This fact indicates that the sequential extractions can be a good alternative processing, allowing maximum utilization of the dye present in the seeds, when compared with technologies studied separately.

**Keywords:** Annatto; Spouted Bed; Supercritical Extraction, Bixin.





# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

O urucum (*Bixa orellana* L.) é um arbusto característico da floresta amazônica de várzea (Figura 1.1a), cujas sementes (Figura 1.1b) produzem um pigmento avermelhado, dependendo de sua concentração em solução (NOBRE et al., 2006). Nativo da parte tropical sul-americana, seus frutos são usados como ingredientes alimentícios há séculos (CHUYEN et al., 2012). Este corante existe nas formas hidrossolúvel e lipossolúvel, podendo ser empregado em grande número de produtos alimentícios. Seus baixos custo de produção e toxicidade fazem dele um pigmento atrativo e conveniente, em substituição a corantes sintéticos (AGNER et al., 2004).

O corante de urucum é bastante utilizado na indústria alimentícia, mais particularmente em lácteos e carnes. O êxito de uso no setor é devido à comparativa instabilidade dos corantes sintéticos nestas aplicações (PRENTICE-HERNANDEZ; RUSIG, 1992). As sementes de urucum também podem ter utilizações não-alimentícias como em remédios, vernizes, corantes, ceras para madeira, tinta para tecidos, couros e fibras em geral (FARIA; COSTA, 1998).

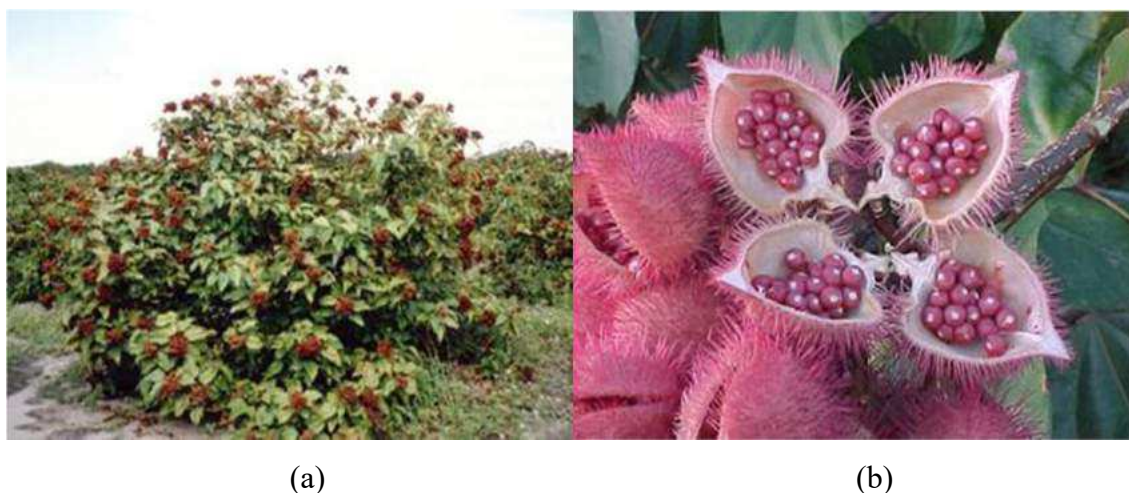


Figura 1.1 (a) O urucuzeiro e (b) as sementes de urucum no fruto (EMEPA, 2012)

O Brasil produzia 1200 toneladas de sementes de urucum em 1987. Em 1990 já produzia 6400 toneladas e em 2014 a produção nacional de sementes de urucum ultrapassou 13000 toneladas, tornando o Brasil o maior produtor, consumidor e exportador mundial de corantes e sementes de urucum. A Figura 1.2, apresentada a

seguir, mostra a evolução da produção de sementes de urucum no Brasil nos últimos 24 anos (CARVALHO, 2015).



Figura 1.2. Evolução da produção de urucum no Brasil (IBGE, 2014)

A produção nacional, de acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Figura 1.3), está em torno de 12.043 toneladas, com área cultivada de 10.579 hectares. O rendimento médio é de 1.138 kg/ha, quase 36% maior do que em 1988, quando era de 834 kg/ha. Este avanço mostra o empenho da cadeia produtiva para alavancar e modernizar a produção nacional ao longo das duas últimas décadas.

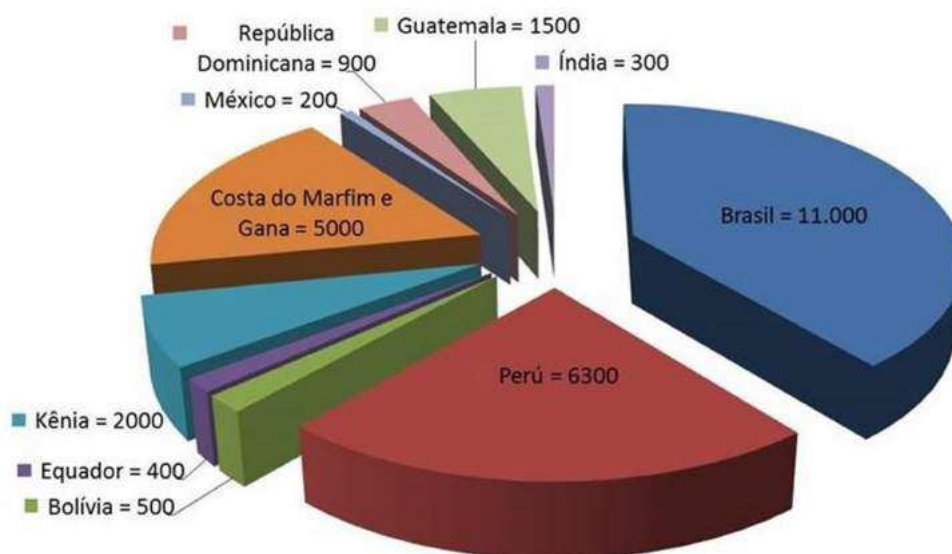


Figura 1.3 Produção mundial de urucum (toneladas) em 2015 (CARVALHO, 2015).

Deve-se destacar, entretanto, a produção nacional ainda não é estável. Por exemplo, para os anos de 2008 a 2012, a produção oscilou. Em 2010, foram produzidas 13.449 t., o recorde do período, e, em 2012, obteve-se 12.043 t., a menor produção, com diminuição de 11 %. Nestes cinco anos, houve uma redução consistente da produtividade na região norte do país, que passou de 1.202 kg/ha em 2008 para 1.019 kg/ha em 2012. Em contrapartida, a região Sudeste apresentou acréscimos de produtividade, passando de 1.024 kg/ha em 2008 para 1.291 kg/ha em 2012. As regiões brasileiras, em 2012, apresentaram as seguintes produções: Sudeste, 4.216 t; Norte, 4.093 t; Nordeste, 2.066 t; Sul, 1.114 t e; Centro Oeste, 554 t. Na região Sudeste, em 2012, o estado de São Paulo foi o principal produtor (63%), seguido de Minas Gerais (35%), Espírito Santo (1,5%) e Rio de Janeiro (0,5%) em 2012.

Na Figura 1.4 é apresentada a evolução dos preços das sementes de urucum desde 1994. Dessa data até 2014 os dados foram calculados com base na publicação da Produção Agrícola Municipal do IBGE (Valor da produção/Quantidade produzida). O ano de 2015 foi estimado considerando uma semente com composição e características principais médias.

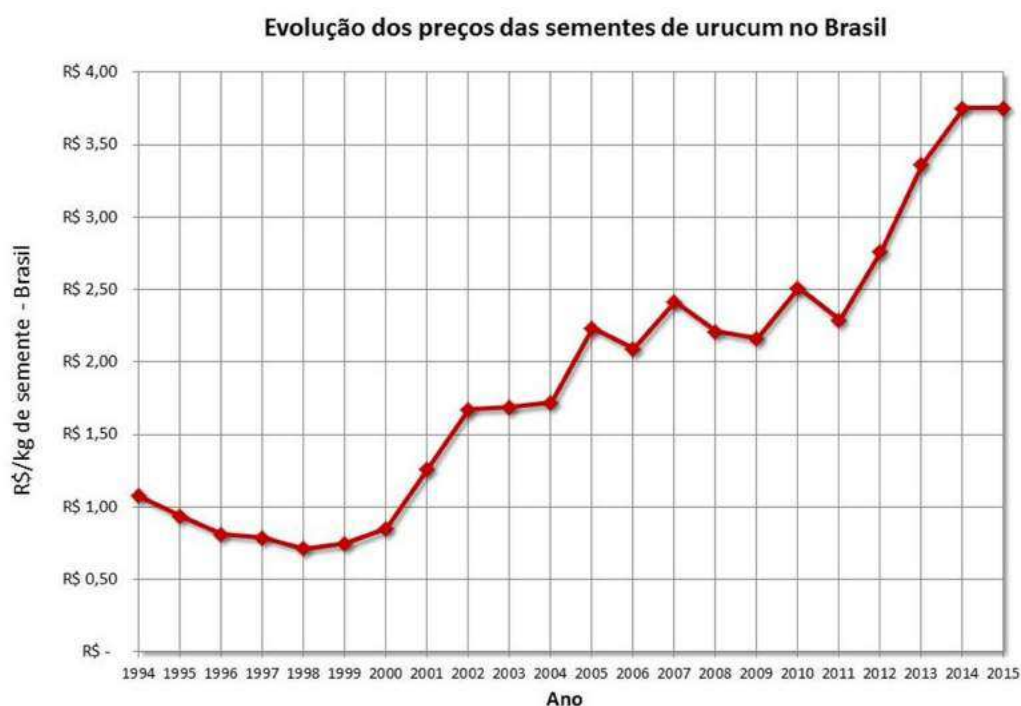


Figura 1.4. Evolução do preço das sementes de urucum no Brasil (IBGE, 2014)

O corante de urucum é vendido, após processamento das sementes, por valores que variam entre R\$ 15,00/kg de solução (hidrossolúvel) a R\$ 35,00/kg de solução

lipossolúvel. O preparado em pó custa R\$ 76,00 por 100 gramas e o padrão do corante de urucum, com 95% de pureza, é vendido a R\$ 280,00 o miligrama. Considerando um processo com 100% de eficiência, 1 kg de sementes rende, aproximadamente, 100 g de pó, cujo valor de venda é 19 vezes superior ao da semente. Tal fato reforça a desvantagem comercial vigente, cuja realidade é a venda das sementes *in natura* pelos produtores rurais.

O principal pigmento do urucum é a bixina, um composto da família dos carotenoides que está contido no revestimento externo da semente (pericarpo). A bixina é responsável pela coloração característica dos extratos de urucum, que podem variar do amarelo ao vermelho intenso, dependendo da sua concentração na solução (LIMA et al., 2001; NOBRE et al., 2006).

Além da bixina, a semente ainda contém uma fração lipídica rica em tocotrienóis e geranilgeraniol. Os tocotrienóis pertencem ao grupo das vitaminas lipossolúveis e um dos componentes da Vitamina E; o geranilgeraniol é um diterpeno que desempenha diversas atividades biológicas, destacando-se por ser um intermediário na biossíntese das Vitaminas E e K. Ambos podem ser utilizados como suplemento nutricional, nutracêutico ou em alimentos e bebidas funcionais (CARVALHO, 2015).

Comercialmente três métodos de extração da bixina do urucum são mais utilizados: a extração alcalina, que transforma a bixina em norbixina, a extração em óleo, que resulta na remoção da bixina e de outros materiais coloridos, e a extração com solvente, que resulta na forma mais pura do pigmento (PRENTICE-HERNANDEZ; RUSIG, 1992). As extrações com solvente orgânico ou solução alcalina, além de requererem uma operação unitária subsequente para remover o solvente ou solução utilizada na extração, podem gerar resíduos tóxicos, elevando o custo do processo (ALBUQUERQUE; MEIRELES, 2012). A extração em óleo vegetal produz suspensões mais concentradas de pigmentos, mas que podem conter produtos de degradação, haja vista que a extração é realizada em temperaturas maiores que 100 °C (MCKEOWN; MARK, 1962).

A indústria atual, sob a ótica da sustentabilidade, visa a alterações substanciais no projeto de processos industriais. Para tanto, é exigido o desenvolvimento de novos

processos baseados em matérias-primas renováveis, na utilização mínima de energia e no emprego de solventes sem restrições ambientais (SANTOS et al., 2011b).

É desejável que os processos estudados e aplicados atendam às exigências do mercado interno e externo e sejam ambientalmente menos agressivos, sendo caracterizados como tecnologias “verdes”. O desenvolvimento de tecnologias eficazes de processamento e o crescente conhecimento da química e bioquímica dos corantes do urucum, e de seu comportamento em diferentes meios, vem contribuindo significativamente para incrementar tanto a qualidade do produto final (corante ou pigmento) quanto o rendimento dos processos de extração.

Neste sentido, novos métodos de extração da bixina de urucum têm sido amplamente estudados. Apresentam-se em destaque os estudos que utilizam dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) supercrítico, líquidos pressurizados, adaptações em extrações convencionais, extração assistida por ultrassom, além das técnicas convencionais de extração mecânica, dentre as quais se destaca o leito de jorro.

Tendo em vista os aspectos mencionados anteriormente, o presente estudo teve como objetivo geral a extração de compostos bioativos das sementes de urucum, com o foco no corante bixina, utilizando diferentes tecnologias, em processo único ou combinadas entre si. Os objetivos específicos foram:

- Estudar o rendimento de bixina no processo de extração em leito fixo em pressões variáveis, utilizando como solventes o dióxido de carbono supercrítico ( $\text{CO}_2$ ), o etanol e uma mistura entre etanol e água;
- Caracterizar o óleo obtido nas extrações acima descritas em termos do perfil de ácidos graxos livres, do teor de bixina e teor de tocois (tocoferóis e tocotrienóis);
- Estudar o fracionamento da extração com  $\text{CO}_2$  supercrítico com o foco na obtenção do geranilgeraniol e bixina das sementes de urucum, utilizando um gradiente de pressão;
- Estudar o processo de extração mecânica da bixina do urucum utilizando uma configuração modificada do leito de jorro, via planejamento experimental. Desenvolver equações empíricas que representem as respostas experimentais obtidas a fim de otimizar o processo de extração em leito de

jorro, com o foco no maior rendimento de bixina e maior pureza do pó obtido, utilizando algoritmos genéticos;

- Aplicar as tecnologias estudadas (extração supercrítica, extração em leito fixo e em leito de jorro) em extrações sequenciais que levem à maximização do rendimento de bixina.

## CAPÍTULO 2

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1 O Urucum

A palavra urucum tem origem na linguagem Tupi-Guarani transliterado “uru-ku” e significa “vermelho”. Seu nome científico “*Bixa orellana* L” foi dado em homenagem a Francisco de Orellana (1490-1546), um membro da expedição de Francisco Pizarro e o primeiro explorador espanhol que navegou o rio Amazonas.

O urucuzeiro é originário da América tropical, pertencente à família Bixaceae. Dependendo da região de cultivo e da idade da planta, apresenta-se como um arbusto perene grande ou como uma árvore pequena. A planta exibe grande variabilidade de coloração, com caule pardo-avermelhado, flores brancas e frutos verdes ou caule vermelho, flores rosas e frutos vermelhos-escuros (PRESTON; RICKARD, 1980). Os frutos são cápsulas armadas por espinhos maleáveis que se tornam vermelhas quando maduras. Na maturidade, o interior das cápsulas contém pequenas sementes dispostas em série, envolvidas por arilo vermelho (GOMES; BRUNO, 1992), como mostra a Figura 2.1a.

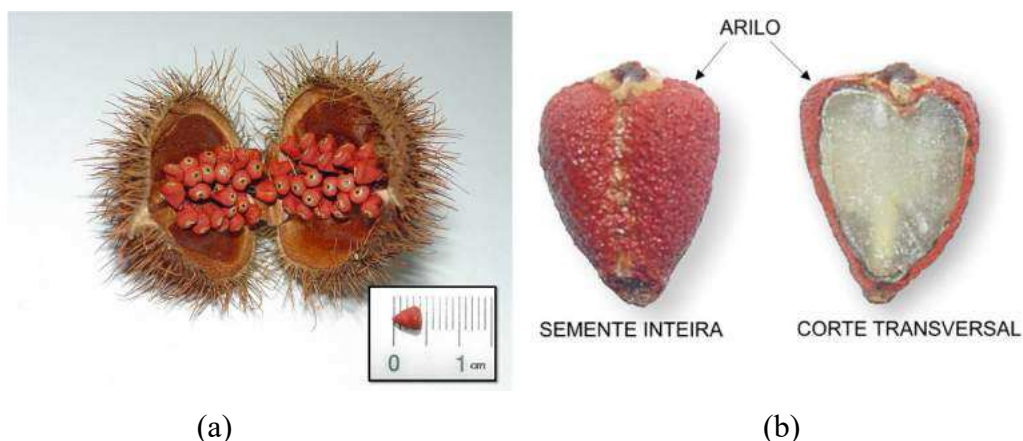


Figura 2.1(a) Cachopa de urucum, (b) Semente inteira e em corte (CARVALHO, 2015).

A semente de urucum apresenta em sua superfície um arilo (pericarpo) que possui várias substâncias além do pigmento vermelho característico (Figura 2.1 b). Este arilo representa cerca de 5 a 10 % do peso da semente, dos quais 30 %, aproximadamente, são carotenoides. A composição centesimal da semente sem o arilo e



do arilo separado mecanicamente das sementes está apresentada a seguir (CARVALHO, 1991).

Tabela 2.1. Composição das sementes de urucum (CARVALHO, 1991)

<b>Composição (%)</b>	<b>Interior da Semente</b>	<b>Arilo</b>
Umidade	9,8	3,5
Cinzas	4,6	2,0
Proteína bruta	10,8	2,5
Gorduras totais	4,8	30,0
Carboidratos	70,0	32,0
Carotenoides	--	30,0

O urucum é o único corante natural que tem sua origem no Brasil. Cerca de 70% da produção brasileira é cultivada, com técnicas de manejo e tratos culturais adequados e beneficiamento mecanizado. A outra parcela da produção ainda é silvestre ou utiliza métodos tradicionais de manejo (CARVALHO, 1991).

## **2.2. Principais utilizações do urucum**

Historicamente, o urucum foi utilizado com muitos propósitos. Desde os tempos mais remotos, os habitantes das Américas Central e do Sul empregavam as sementes de urucum para tingir de vermelho seus artefatos de caça, pesca, vestimentas, enfeites de guerra e o próprio corpo, atuando como repelente para insetos (CARVALHO, 2015). No Brasil, o urucum vem sendo mais comumente utilizado como ingrediente, uma vez que este corante existe nas formas hidrossolúvel e lipossolúvel, podendo ser empregado em grande número de produtos alimentícios. Seu baixo custo de produção, aliado à baixa toxicidade, fazem deste um pigmento muito atrativo e conveniente à indústria de alimentos, em substituição a muitos corantes sintéticos (AGNER et al., 2004).

Pode-se destacar, ainda, que o consumo de um alimento que possui em sua composição os corantes naturais é associado à imagem de um alimento de qualidade e saudável, uma vez que a coloração é um indicativo de frescor e qualidade (SANTOS et al., 2014). Além disso, os corantes sintéticos tendem a serem vistos como indesejáveis e prejudiciais, sendo alguns deles responsabilizados por reações alergênicas e de intolerância (MONTES et al., 2005).

O urucum é a mais importante fonte de corante natural empregada na indústria de alimentos, correspondendo a 90 % do total de consumo de corantes naturais no Brasil e em torno de 70 % de corantes naturais mundialmente empregados em alimentos (CANTO et al., 1991). A Tabela 2.2 mostra as principais formas de utilização do urucum na indústria alimentícia, bem como suas principais características (STRINGHETA; SILVA, 2008):

Tabela 2.2. Os extratos de urucum e suas aplicações (STRINGHETA; SILVA, 2008)

<b>Extrato</b>	<b>Forma</b>	<b>Pigmento</b>	<b>Tonalidade de Cor</b>	<b>Aplicações</b>
Lipossolúvel	Líquido	Bixina	Amarelo, amarelo-alaranjado ou laranja-avermelhado	Massas, recheios e coberturas de doces, molhos e margarinas
	Pó microencapsulado			Bebidas, misturas em pó, confeitos
Solúvel em emulsões	Líquido	Norbixina	Amarelo-alaranjado a amarelo claro	Massas, sorvetes, bebidas, iogurtes e queijos
Hidrossolúvel	Líquido	Norbixina	Laranja-amarelado a alaranjado	Salsichas e embutidos, cereais, biscoitos, queijos catchup
	Pó			Massas, sopas, temperos, sobremesas em pó
Colorífico	Pó	Bixina	Laranja a laranja-avermelhado	Uso doméstico, temperos e sopas

Além dos extratos lipossolúvel e hidrossolúvel de urucum, também são encontrados no mercado o pó, cujo valor comercial é avaliado pela sua porcentagem de bixina, e colorífico ou colorau, largamente empregado na culinária (FARIA; COSTA,

1998). Este último é produzido pela mistura das sementes a óleo vegetal e fubá de milho, em proporções definidas de acordo com a cor que se deseja ao final (CARVALHO, 2015). De modo geral, os pigmentos em pó têm sido preferidos pela indústria, por apresentarem alta intensidade de cor, fácil manuseio e transporte e maior estabilidade durante a estocagem.

## 2.3 Compostos Bioativos

### 2.3.1 A Bixina

A bixina foi isolada pela primeira vez por Boussingault em 1825. Sua fórmula molecular é (C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>) e apresenta-se convencionalmente de duas formas (Figura 2.2): a bixina, lipossolúvel, e a norbixina, cuja forma de sal hidrolisado é hidrossolúvel (LIMA et al., 2001).

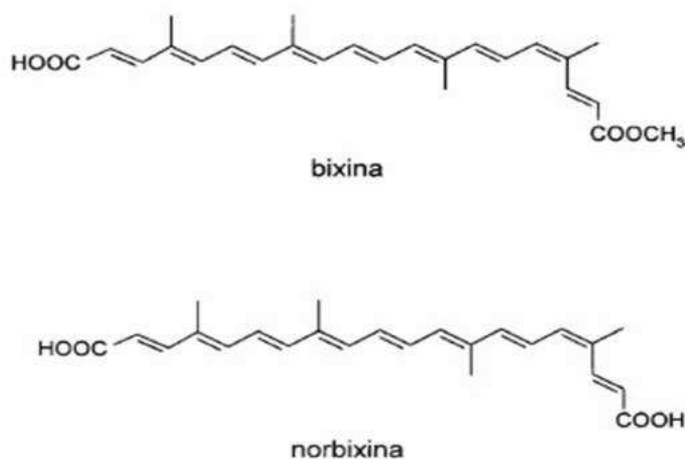


Figura 2.2 A bixina e a norbixina.

A bixina, um C<sub>25</sub> diapocarotenoide, é quase a única na família dos carotenoides que pode atuar como corante em uma série de estruturas químicas diferentes. As sementes de urucum contêm cis-bixina (> 80 % do total), com menor quantidade de trans-bixina e cisanorbixina. Com o aquecimento, a cis-bixina é transformada na sua forma mais estável, a trans-bixina, conforme mostra a Figura 2.3 (HENRY, 1996).

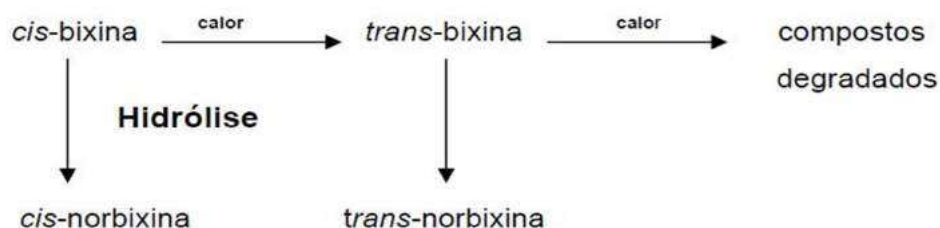


Figura 2.3. Diferentes tipos de pigmentos do urucum (HENRY, 1996)

Sob condições específicas de temperatura e pH, a bixina pode ser hidrolisada em norbixina, e o ácido dicarboxílico é saponificado no sal norbixina. A Tabela 2.3 mostra as principais características da bixina e norbixina.

Tabela 2.3. Propriedades da bixina e norbixina (STRINGHETA; SILVA, 2008).

	<b>Bixina</b>	<b>Norbixina</b>
<b>Fórmula molecular</b>	$C_{25}H_{30}O_4$	$C_{24}H_{28}O_4$
<b>Peso molecular (g/mol)</b>	394,5	380,5
<b>Ponto de fusão (°C)</b>	cis: 190 trans: 205	cis: 280 trans: 250
<b>Solubilidade</b>	Insolúvel em água; Solúvel em acetona, clorofórmio, etanol e propilenoglicol; Ligeiramente solúvel em éter.	Insolúvel em água, etanol, propilenoglicol, óleos e gorduras; Solúvel em ácido acético glacial. <i>Norbixato de sódio ou potássio:</i> solúvel em água.

O extrato de urucum tem uma estabilidade considerável à oxidação pelo oxigênio em meio anidro, mas uma resistência mais baixa aos efeitos da luminosidade. Segundo Rodriguez-Amaya (1988), a cis-bixina é sensível à luz e há estudos que mostram sua instabilidade à temperatura ambiente, mesmo armazenada no escuro, tanto na forma de pó quanto em solução de clorofórmio.

Uma forma de garantir a estabilidade do corante sob a incidência luminosa é a adição de antioxidantes, conforme sugeriram Najar et al. (1988). Kiokias e Gordon

(2003), investigaram as propriedades antioxidantes dos carotenoides de urucum em emulsões oleosas comestíveis. Os autores também pesquisaram a sinergia entre os pigmentos e outros antioxidantes naturais adicionados às emulsões e verificaram que a norbixina apresentou efeito sinérgico com tocoferóis e ácido ascórbico, retardando a deterioração oxidativa dos lipídios.

Altas temperaturas devem ser evitadas no processamento das sementes de urucum, uma vez que temperaturas maiores do que 70 °C acarretam reações de degradação. Estas reações levam à formação de vários produtos, incluindo um composto de 17 carbonos, conhecido como pigmento amarelo de McKeown (JECFA, 2006a), um composto atóxico, porém menos estável do que a bixina. Zanella (2014) reporta alta degradação da bixina em solução mantida em temperaturas variadas, ocorrendo maior degradação em temperaturas acima de 60°C.

### 2.3.2 Os Tocotrienóis

O termo genérico "vitamina E" é utilizado para designar os tocois, que são oito diferentes compostos, nomeados  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ - (alfa, beta, gama e delta) tocoferóis e tocotrienóis. Tanto tocoferóis como tocotrienóis ocorrem em uma variedade de isômeros que diferem na estrutura de acordo com o número e a localização de grupos substituintes no anel cromanol, conforme mostra a Figura 2.4 (GUINAZI et al., 2009).

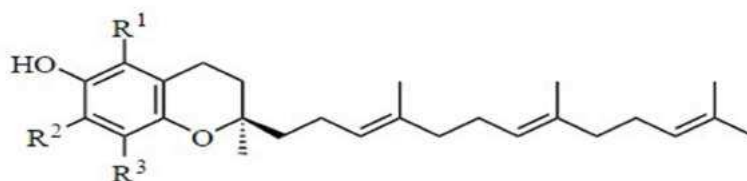


Figura 2.4 Estrutura geral dos tocotrienóis

A vitamina E tem sido extensivamente estudada em diversas áreas do conhecimento, uma vez que desempenha papéis especialmente importantes na reprodução celular e em mecanismos antioxidantes de tecidos animais e vegetais. De fato, o estudo da ação da vitamina E em ratos mostrou uma redução significativa nos compostos oxidativos causado pela eliminação dos radicais livres, reduzindo os níveis de peroxidação lipídica (WANG et al., 2012).

Segundo Sun et al. (2012), a suplementação com Vitamina E na alimentação de pessoas saudáveis mostrou redução no estresse oxidativo de células sanguíneas. Estudos atribuem aos tocotrienóis propriedades anticâncer (RAHMAN et al., 2008; PATACSIL et al., 2012; PIERPAOLI et al., 2013) além de serem utilizados na prevenção de doenças cardíacas (LEE et al., 2005; SHIBATA et al., 2008).

O urucum já foi identificado, também, como uma fonte rica de  $\delta$ -tocotrienol, ultrapassando, inclusive, duas reconhecidas fontes deste composto, que são o óleo de palma e o óleo de farelo arroz (FREGA et al., 1998; COSTA et al., 2013). Além disso, a eficácia dos extratos de urucum na prevenção da peroxidação de lipídios e como agente antioxidante (MIYAZAWA et al., 2011; CHISTÉ et al., 2011) deve-se à combinação da ação dos tocotrienóis e da bixina (KIOKIAS; GORDON, 2003).

### 2.3.3 O Geranilgeraniol

O termo geranilgeraniol é utilizado para descrever um álcool diterpeno de cadeia linear e ocorrência natural. Sua fórmula estrutural pode ser descrita como: trans-3, 7, 11, 15-tetrametilhexadecatetra-2, 6, 10, 14-em-1-ol (Figura 2.5). Solúvel em solventes orgânicos como clorofórmio, acetona e álcool, o geranilgeraniol é conhecido como um intermediário de biossínteses importantes, como a da vitamina K, dos tocoferóis, de diversos hormônios e dos carotenoides (SANTOS et. al, 2011a), o que eleva o interesse biológico deste composto (HYATT et al., 2002).

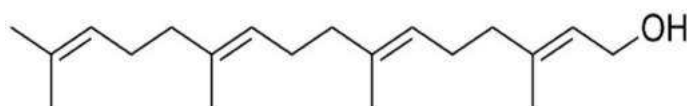


Figura 2.5. Estrutura geral do geranilgeraniol

Assim como os tocotrienóis, o geranilgeraniol também tem se mostrado eficaz na eliminação de células cancerígenas do corpo humano (MIQUEL et al., 1998; GIBBS et al., 1999), com destaque à ação contra o câncer de próstata (YEGANEHJOO, 2012).

## 2.4 Legislação

No Brasil, o uso de aditivos em alimentos é regulado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Com relação à utilização de corantes, desde 1965 a

legislação vem passando por diversas revisões. Segundo registros da Anvisa, o Decreto 50.040, de 24 de janeiro de 1961, foi o que primeiro dispôs sobre normas técnicas especiais reguladoras do emprego de aditivos químicos a alimentos, alterado pelo Decreto 691, de 13 de março de 1962 e modificado pelo Decreto 55.871, de 26 de março de 1965.

Segundo o artigo 2º do Decreto 55.871, considera-se aditivo para alimento a substância intencionalmente adicionada ao mesmo com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo, excluindo-se, do disposto nesse artigo, os ingredientes normalmente exigidos para o preparo do alimento.

Dentre os aditivos a que esse artigo se refere, está o corante, definido como a substância que confere ou intensifica a cor dos alimentos. Em seu artigo 5º, o Decreto 55.871 considera tolerável o uso do aditivo desde que seja indispensável para a adequada tecnologia de fabricação, tenha sido previamente registrado no órgão competente do Ministério da Saúde e seja empregado na quantidade estritamente necessária à obtenção do efeito desejado, respeitado o limite máximo que vier a ser fixado.

O artigo 8º do Decreto 55.871 proíbe o uso de aditivo em alimentos quando:

- Houver evidência ou suspeita de que o mesmo possui toxicidade atual ou potencial;
- Interferir sensível e desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento;
- Servir para encobrir falhas no processamento e nas técnicas de manipulação;
- Encobrir alteração ou adulteração na matéria-prima ou no produto já elaborado;
- Induzir o consumidor a erro, engano ou confusão;
- Não satisfazer as exigências do citado decreto.

Em seu artigo 10, o Decreto 55.871 considera como corantes tolerados na fabricação de alimentos os corantes naturais, caramelo e corantes artificiais. Em seus parágrafos, ele descreve como corante natural, o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal; “corante caramelo” o produto obtido a partir de açúcares, pelo aquecimento e temperatura superior ao seu ponto de fusão e posterior

tratamento indicado pela tecnologia; e "corante artificial" a substância corante artificial de composição química definida, obtida por processo de síntese. Por último, em seu artigo 13º, o Decreto 55.781 considera como tolerável a venda de mistura ou solução de, no máximo, três corantes.

A partir de 1998, portarias e resoluções vem sendo publicadas e periodicamente revisadas, regulamentando, dentre outros aditivos alimentares, o uso do corante de urucum, estabelecendo seus limites máximos para as diversas categorias de alimentos.

Também o 67º encontro do Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), determinou o ADI (*Acceptable Daily Intake* – consumo diário aceitável) de bixina de 0-12 mg/kg de massa corporal, aplicável aos extratos de urucum desde que esses extratos contenham bixina extraída com solvente orgânico ou obtida por processo aquoso. Este ADI não se aplica à bixina obtida por processo oleoso. Já com relação ao ADI para a norbixina e seus sais de potássio e sódio, o JECFA determinou 0-0,6 mg/kg de massa corporal (expresso como norbixina), aplicável aos extratos de urucum extraídos com solvente e obtidos por processo alcalino, precipitada ou não por ácido (JECFA, 2006a).

## **2.5 O Urucum como Alimento Funcional**

As propriedades medicinais do urucum ainda não são amplamente conhecidas. As partes utilizadas das plantas são as folhas, os frutos e as sementes. As folhas, secas, podem ser utilizadas em infusões, enquanto dos seus frutos, é extraído o corante utilizado como medicamentos e tinturas (COELHO et al., 2003a).

Os extratos das sementes do urucum, em estudos com animais, apresentaram ações farmacológicas, atividade diurética e hipoglicemiante, assim como uma capacidade de diminuir a atividade motora. Os extratos das sementes são, ainda, popularmente utilizados na cura de eczemas e herpes zoster (SILVA, 2007).

Dentre os carotenoides naturais, a bixina e a norbixina podem contribuir para a proteção das células e tecidos contra os radicais livres (SILVA et al., 2001). Em um estudo das propriedades antioxidantes dos carotenoides e do urucum, verificou-se que a norbixina retardou a oxidação de lipídios do óleo de oliva, tanto em solução oleosa



quanto em emulsões de óleo em água. Nas emulsões, ela foi mais efetiva que outros carotenoides, como a bixina e o  $\beta$ -caroteno (KIOKIAS; GORDON, 2003).

O extrato etanólico de folhas e sementes de *Bixa orellana* apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, tais como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (FLEISCHER et al., 2003). Coelho et al. (2003b) verificaram que tinturas extraídas do caule, flor, folha, fruto e raiz de exemplares de urucum também inibiram o desenvolvimento de algumas espécies de bactérias estudadas. O extrato etanólico e hidroetanólico das sementes apresentaram atividade antimicrobiana de um frente a algumas bactérias gram positivas (IROBI et al., 1996; GONÇALVES et al., 2005). Recentemente, Majolo et al. (2013) concluíram que, entre as bactérias estudadas, a maior sensibilidade ao extrato de urucum foi verificada em *Enterococcus faecalis* e *Listeria monocytogenes*, enquanto que a enterobactéria *Escherichia coli* mostrou-se menos sensível.

Barbosa Filho (2006) fez um levantamento de estudos científicos realizados no continente americano, que avaliavam atividades farmacológicas do urucum e de seus extratos, em diferentes partes da planta. Os estudos respaldaram utilizações medicinais populares do urucum, como a atividade hipoglicemiante (diabetes), inseticida, antigonorreica e hipotensora arterial.

Os efeitos da ingestão de bixina, quercitina e norbixina no metabolismo lipídico de coelhos foi avaliado no estudo feito por Lima et al. (2001). Dentre as substâncias estudadas, a bixina apresentou o melhor efeito sobre a redução do colesterol e sobre a manutenção dos níveis de colesterol – HDL – mais elevados. Estes resultados são promissores, mostrando uma probabilidade de utilização potencial dessas substâncias como fármacos no tratamento e/ou na prevenção de doenças cardíacas.

Gordon e Sotirios (2003) pesquisaram as propriedades antioxidantes de alguns carotenoides e o sinergismo destes compostos com outros antioxidantes na conservação de óleos comestíveis e suas emulsões, concluindo que a norbixina, associada ao  $\alpha$ - e  $\beta$ -tocoferol, aumentou a ação antioxidante destes tocois na conservação do óleo de oliva. Eles sugerem, ainda, que a presença do grupo carboxílico na molécula da norbixina pode contribuir para retardar a auto-oxidação ao completar íons metálicos pró-oxidantes

ou outras espécies de iniciadores polares. Também os carotenoides que contêm oxigênio como grupo polar são melhores antioxidantes do que carotenoides hidrofóbicos.

## **2.6 Métodos de extração da bixina das sementes de urucum**

Os processos artesanais de obtenção dos corantes das sementes de urucum foram aprendidos com os índios, consistindo em misturar as sementes com água fervente de modo a extrair um caldo vermelho. O consumo desse corante logo passou a ser feito com a semente moída, que ganhou o nome de colorau em referência a uma especiaria portuguesa homônima, de coloração similar, feita com pimentão vermelho moído. Com o aumento do consumo desse corante e a escassez das sementes de urucum, a alternativa encontrada na época foi a adição de milho triturado às sementes de urucum. Nascia naquela época o colorau ou colorífico, e esta forma de comercialização persiste até hoje (CARVALHO, 2015).

Atualmente, diversos métodos podem ser utilizados para a extração, alguns em escala comercial e outros em escala piloto. Comercialmente, três métodos básicos são mais usados para extrair o pigmento das sementes: a extração alcalina; a extração em óleo, que resulta na remoção da bixina das sementes, além de pequenas quantidades de outros materiais coloridos; e a extração com solvente, que resulta na forma mais pura do pigmento bixina (PRENTICE-HERNANDEZ; RUSIG, 1992). Outros métodos de extração também podem ser utilizados, tais como a extração mecânica e a extração com dióxido de carbono supercrítico. Estes dois últimos são caracterizados por serem métodos de extração não poluentes, embora ainda sejam mais utilizados em escalas laboratoriais como objetos de estudo.

O processo mais simples e mais utilizado comercialmente para a produção de corantes de urucum é o que utiliza soluções alcalinas para extrair o pigmento. Este, não solúvel em água, pode ser saponificado facilmente em uma solução alcalina. Tanto o hidróxido de sódio, de potássio ou de amônio e o carbonato de sódio são utilizados como agentes alcalinizantes (SILVA, 2007).

A extração com solventes orgânicos é limitada pela necessidade de um solvente que seja compatível com o emprego do produto final. Em produtos alimentícios, o corante estará sujeito a sérias restrições técnicas, pela toxicidade potencial de resíduos

de solventes neles presentes. Esse fato vem diminuindo a utilização desse processo na produção do corante.

De acordo com a Resolução CNNPA nº 44 (BRASIL, 1977), os solventes autorizados que devem ser usados na elaboração e processamento de corantes são: água, açúcares, álcool etílico, amidos, cloreto de sódio, dextrina, gelatina, glicerol, óleos e gorduras comestíveis. Portanto, apesar de a extração dos pigmentos das sementes de urucum utilizando solventes orgânicos ser a mais eficiente em termos do teor de pigmentos extraídos e da pureza do extrato, esta não é muito utilizada em escala industrial para utilização em alimentos, devido à possível presença de resíduos de solventes no produto processado.

A extração direta com óleo é aplicada industrialmente pela imersão da semente em óleo vegetal comestível refinado para produzir uma solução oleosa de bixina, que é então aquecida e filtrada. O aquecimento da solução provoca a isomerização *cis-trans* que, no caso, é desejável, haja vista que a *trans*-bixina é relativamente mais solúvel em óleo do que a configuração *cis* (SMITH, 2006). O filtrado é comercializado como corante para alimentos com elevado teor de lipídios, como margarinas. O extrato normalmente contém aproximadamente 1,5 % de bixina, ou em alguns casos, suspensões oleosas com até 8 % de bixina são comercializadas diretamente como corante de urucum lipossolúvel após a padronização da cor. O pigmento principal obtido neste método de extração é a bixina, apesar de haver a formação de compostos de degradação térmica, que têm como características a lipossolubilidade e uma coloração amarela mais estável, devido ao uso de calor durante o processo (STRINGHETA; SILVA, 2008).

A extração mecânica das sementes de urucum é um método físico alternativo, que consegue remover o arilo das sementes por fricção. Este método apresenta algumas vantagens, como a redução do tempo de processamento e redução ou eliminação do uso de solventes, além de aumentar o rendimento e a qualidade dos extratos (CUNHA et al., 2009). Esta tecnologia usa equipamentos relativamente simples, como o tambor rotatório ou o leito de jorro, além de serem facilmente instaláveis em propriedades rurais produtoras de urucum, adicionando valor ao produto final. A principal vantagem da utilização do leito de jorro é um melhor controle das variáveis do processo em

relação a outros métodos de extração mecânica (MATHUR; EPSTEIN, 1974; BARROZO et al., 2013; DUARTE et al., 2005).

No processo de extração supercrítica, por sua vez, é utilizado um solvente que se encontra acima das condições críticas de temperatura e pressão, ocorrendo um aumento significativo na solubilidade de certos compostos neste solvente sob tais condições. Com isso, a extração com fluidos supercríticos é uma técnica atrativa para a remoção de compostos de maneira seletiva de sistemas alimentícios complexos. Tais compostos seriam de difícil remoção se utilizados os métodos convencionais (CHAO et al., 1991; NOBRE et al., 2006).

A fim de ampliar a discussão acerca de tecnologias limpas de extração, uma análise dos métodos de extração supercrítica, com fluidos pressurizados e mecânica utilizando leito de jorro será apresentada a seguir.

#### *2.6.1 A Extração Supercrítica*

A extração com fluido supercrítico (SFE - *Supercritical Fluid Extraction*) é uma operação unitária que explora o poder de solvatação dos fluidos a temperatura e pressão acima de seus valores críticos. Embora as propriedades de fluido supercrítico sejam conhecidas há muito tempo, sua exploração em laboratório e processos de separação comercial tem origem relativamente recente. A extração com fluido supercrítico é aplicada em indústrias de alimentos, química, cosmética e farmacêutica, tratando-se de uma tecnologia limpa e, portanto, considerada “indústria verde”. Essa característica tornou-a ainda mais interessante tendo em vista que as regulamentações com relação ao uso de solventes orgânicos tornaram-se mais rígidas e restritivas (RIZVI et al., 1986; BRUNNER, 1994).

Os fluidos supercríticos caracterizam-se por sua temperatura e pressão estarem superiores aos correspondentes valores críticos. Acima do ponto crítico, deixa de haver tensão superficial e separação entre as fases líquida e gasosa em equilíbrio, formando-se uma única fase supercrítica, cujas propriedades são intermediárias daqueles dois estados. Abaixo do ponto crítico, o fluido pode existir como um líquido ou como um gás (SHIBATA; SANDLER, 1989).

A densidade do fluido supercrítico aumenta com a pressão à temperatura constante e diminui com a temperatura à pressão constante. Nas proximidades do ponto crítico, estas variações ocorrem mais intensamente em um pequeno intervalo de pressão (CLIFFORD, 1999). Como a densidade do fluido está relacionada com o seu poder de solvatação, este tende a aumentar com a densidade à temperatura constante e aumentar com a temperatura à densidade constante.

Outra característica do fluido no estado supercrítico é o poder de penetração, baseado na alta taxa de transferência do soluto no fluido. A baixa viscosidade e alta difusividade favorecem esta propriedade, permitindo uma extração eficiente dos compostos de interesse da matéria-prima (RAVENTÓS et al., 2002).

As propriedades físico-químicas do fluido no estado supercrítico (Tabela 2.4) são de grande interesse industrial, pois são inúmeros os processos que podem ser melhorados quando se emprega esta tecnologia: extração de compostos bioativos, reações de polimerização, formação de partículas, entre outras (BRUNNER, 2005).

Tabela 2.4 Propriedades físicas ligadas ao estado da matéria (ROZZI; SINGH, 2002).

Propriedade	Líquido (1 atm, 15-30°C)	Supercrítico (Pc, Tc)	Gás (1 atm, 15-30°C)
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	0,6 – 1,6	0,2 – 0,9	(0,6-2,0).10 <sup>-3</sup>
Viscosidade absoluta (g/cms)	(0,2-3,0).10 <sup>-2</sup>	(1,0-9,0).10 <sup>-4</sup>	(1,0-3,0).10 <sup>-4</sup>
Difusividade mássica (cm <sup>2</sup> /s)	(0,2-2,0).10 <sup>-5</sup>	(0,2-0,7).10 <sup>-3</sup>	0,1-0,4

Um dos fluidos supercríticos mais usados na indústria e na pesquisa é o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), que possui temperatura crítica (Tc) de 31,1 °C e pressão crítica (Pc) de 73,7 bar. Estas condições de temperatura e pressão não são difíceis de serem conseguidas, exigindo menor esforço instrumental. Além disso, o CO<sub>2</sub> no estado supercrítico apresenta alta compressibilidade, densidade semelhante aos líquidos, alta difusividade e baixa viscosidade, propriedades que favorecem a penetração e transporte do fluido supercrítico na matriz vegetal, quando comparado a processos convencionais (DUNFORD et al., 2003).

Uma vez que as propriedades críticas são características particulares de cada substância, a Tabela 2.5 fornece as condições críticas de diversos fluidos, além do CO<sub>2</sub>,

que podem ser empregados na extração supercrítica (RIZVI et al., 1986; McHUGH; KRUKONIS, 1994).

Tabela 2.5. Propriedades críticas de solventes utilizados na extração supercrítica (ROZZI; SINGH, 2002).

<b>Solvente</b>	<b>T crítica (°C)</b>	<b>P crítica (bar)</b>
Dióxido de Carbono	31,10	73,76
Etano	32,30	48,84
Etanol	240,75	61,40
Etileno	9,30	50,36
Propano	96,70	42,45
Propileno	91,90	46,20
Ciclohexano	280,30	40,73
Benzeno	289,00	48,94
Tolueno	318,60	41,14
Clorotrifluormetano	28,90	39,21
Triclorofluormetano	198,10	44,07
Amônia	132,50	112,77
Água	374,20	220,48

A Tabela 2.6 apresenta a solubilidade de diferentes compostos em dióxido de carbono supercrítico.

Tabela 2.6. Solubilidade de compostos em CO<sub>2</sub> supercrítico (ROZZI; SINGH, 2002).

<b>Alta Solubilidade</b>	<b>Média solubilidade</b>	<b>Baixa solubilidade</b>
Compostos orgânicos de baixa polaridade e peso molecular < 250	Compostos orgânicos polares com peso molecular < 400	Compostos orgânicos polares com peso molecular > 400
Voláteis (ex: aromas)	Substâncias com baixa volatilidade	Não-voláteis
Tióis, pirazinas, ácido acético, hexanol, glicerol	Água, terpenos, ácido oléico, e lipídios saturados com cadeia até 12 carbonos	Proteínas, açúcares, oligossacarídeos, aminoácidos, sais, nitratos

O CO<sub>2</sub>, conforme mostra a Tabela 2.6, tende a ser seletivo na direção de compostos com baixo peso molecular ou fracamente polares, como lipídios, colesterol, aldeídos e cetonas, enquanto compostos polares ou de alto peso molecular são relativamente insolúveis nas mesmas condições. É possível estender e modificar esta seletividade e solubilidade dos compostos em dióxido de carbono supercrítico adicionando cossolventes ou adsorventes.

O processo de extração supercrítica consiste em duas etapas essenciais: extração e separação. O material a ser extraído é colocado dentro do extrator junto com o fluido supercrítico a uma pressão e temperatura específicas. Para materiais sólidos, a extração pode ser feita em batelada, ao passo que, para líquidos, a extração pode ser contínua (RAVENTÓS et al., 2002). Durante a extração dos compostos solúveis de matrizes vegetais, algumas etapas consecutivas ocorrem (BRUNNER, 1994):

- A matriz vegetal absorve o solvente supercrítico ou outros fluidos deliberadamente adicionados no processo de extração, causando o intumescimento da estrutura celular e facilitando, assim, o transporte de massa.
- Em paralelo, os compostos extraídos são dissolvidos pelo solvente. Uma reação química pode ocorrer antes da solvatação;
- Os compostos dissolvidos são transportados até a superfície do sólido. Nesse caso, a difusão é o mecanismo de transporte mais importante;
- Os compostos dissolvidos atingem a superfície externa, podendo ocorrer, neste instante, mudança de fase;
- Os compostos presentes na camada da superfície são transportados pelo solvente supercrítico;

Após a extração, a mistura de fluido e componente extraído passa para um separador que, por meio da redução da pressão ou mudança na temperatura, reduz o poder de solvatação do fluido, ocorrendo, assim, a separação ou fracionamento dos componentes (RAVENTÓS et al., 2002). No caso do dióxido de carbono supercrítico, a redução da pressão faz com que o fluido retorne para o estado gasoso, separando-o dos compostos extraídos e podendo ele ser, então, devolvido à atmosfera.

A extração supercrítica das sementes de urucum vem sendo estudada com foco na extração da bixina das sementes e o processo tem se mostrado tecnicamente factível

(DEGNAN et al., 1991; CHAO et al., 1991; NOBRE et al., 2006; CHUYEN et al., 2012; ANDERSON et al., 1997; SILVA et al., 2008; ALBUQUERQUE; MEIRELES, 2012). Alguns destes estudos conseguiram mostrar a relação entre a eficiência da extração com o aumento da temperatura e pressão.

Nobre et al. (2006) extraíram a bixina das sementes de urucum com CO<sub>2</sub> supercrítico a 200 bar e 40°C, obtendo baixo rendimento, decrescente com o aumento do fluxo, devido, provavelmente, à resistência à transferência de massa no pericarpo da semente. Entretanto, perceberam que a recuperação aumentava com a temperatura, à pressão constante e com a pressão, à temperatura constante. Os maiores valores para concentração de bixina nos extratos (aproximadamente 20 %) foram obtidos quando o etanol foi utilizado como cossolvente.

Anderson et al. (1997) extraíram a bixina das sementes do urucum utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico e diferentes proporções de metanol, clorofórmio e acetonitrila como cossolventes. A maior extração deu-se em duas etapas subsequentes em que a concentração de acetonitrila era aumentada até 4%, a 600 bar e 40°C. Este trabalho também corrobora com a utilização de cossolventes para potencializar a extração da bixina das sementes do urucum.

Embora a eficiência do processo possa ser melhorada com o ajuste das condições operacionais, estudos da literatura têm mostrado que o rendimento de bixina é baixo, e que enquanto a proporção entre a massa de bixina e a massa de CO<sub>2</sub> variou de 0,0003 a 0,05 mg de bixina/ g de CO<sub>2</sub>, a proporção entre a massa de extrato e a massa de CO<sub>2</sub> variou de 0,07 a 2,5 mg do extrato/g de CO<sub>2</sub> (NOBRE et al, 2006; CHUYEN et al., 2012; ANDERSON et al., 1997; SILVA et al., 2008). Por outro lado, a extração supercrítica das sementes de urucum provou ser vantajosa não só na extração de diversos terpenoides, fornecendo uma maior seletividade em comparação aos processos de extração com solventes (CHAO et al., 1991), bem como evitando problemas encontrados na extração convencional: altos gastos de energia, problemas ambientais, toxicidade do extrato e necessidade de recuperação do solvente orgânico utilizado (SILVA et al., 2008).

Recentemente, as extrações sequenciais vêm ganhando espaço na obtenção da bixina das sementes de urucum. Em seu trabalho experimental, Rodrigues et al. (2014)



testaram a extração de sementes pré-tratadas com CO<sub>2</sub> supercrítico, aplicando a elas uma extração sequencial utilizando água e etanol com variações na pressão (extração à pressão ambiente e com líquidos pressurizados) e utilizando extração assistida por ultrassom. As condições operacionais utilizadas foram uma variação entre 20 a 100 bar (para extração com líquidos pressurizados) e temperaturas variando de 40 a 60 °C. Os resultados indicaram um favorecimento na obtenção da bixina quando se aplicam baixas pressões (ambiente) e que a utilização do ultrassom não aumentou o rendimento. Seus maiores resultados para rendimento de extração de bixina foram iguais a 30% utilizando etanol a baixa pressão.

Moraes et al. (2015) propuseram um sistema de extração pseudo-contínuo com o foco na recuperação dos compostos bioativos presentes nas sementes de urucum: os tocotrienóis e a bixina. Neste sistema, uma fração de óleo, rica em tocotrienóis era extraída primeiramente com CO<sub>2</sub> supercrítico seguida da extração aquosa e etanólica da bixina utilizando uma variação de temperatura de 40 a 60 °C e pressão ambiente. Os resultados obtidos, semelhantes aos encontrados por Rodrigues et al. (2014), indicaram ser o etanol o solvente mais adequado, em termos do maior rendimento de bixina obtido.

### *2.6.2 O Leito de Jorro*

A extração mecânica da bixina em leito de jorro pode ser uma alternativa viável para a obtenção do corante a partir das sementes do urucum. Esta técnica tem algumas vantagens sobre as demais apresentadas, uma vez que não necessita de um grande investimento inicial em equipamentos sofisticados e nem de recuperação de solvente, por tratar-se de uma extração mecânica. Além disso, a técnica tem sua importância ressaltada pelo fato de não deixar resíduos tóxicos no corante a ser utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica.

O leito de jorro é um equipamento que promove o contato sólido-fluido, desenvolvido por Marthur e Gishler em 1955, quando trabalhavam na otimização de um secador de leito fluidizado para grãos de trigo. Este equipamento foi empregado inicialmente na secagem de materiais granulados termossensíveis, com diâmetros de partículas maiores do que 1 mm. Uma característica típica deste equipamento é o movimento cíclico e uniforme das partículas no interior do leito, o que proporciona um

bom contato entre o fluido e as partículas, garantindo elevados coeficientes de transferência de calor e massa e justificando, assim, o seu uso em secagem e inoculação de grãos.

O leito de jorro pode ser também utilizado em outros processos, tais como oxidação parcial catalítica de metano para síntese de gás (MARNASIDOU et al., 1999), recobrimento de cápsulas (MARTINS; OLIVEIRA, 2003), sementes (SILVA et al., 2011), pirólise de serragem ou resíduos de madeira (AGUADO et al., 2000; OLAZAR et al., 2000), inoculação de sementes de soja (DUARTE et al., 2005), extração mecânica (PASSOS et al., 1998; CUNHA et al., 2008), secagem de pastas e soluções (RAMOS et al., 2010; SHUHAMA et al., 2003; ALMEIDA et al., 2010) e secagem de sementes (ALMEIDA; ROCHA, 2002; JITTANIT et al., 2013, BORTOLOTTI et al., 2013).

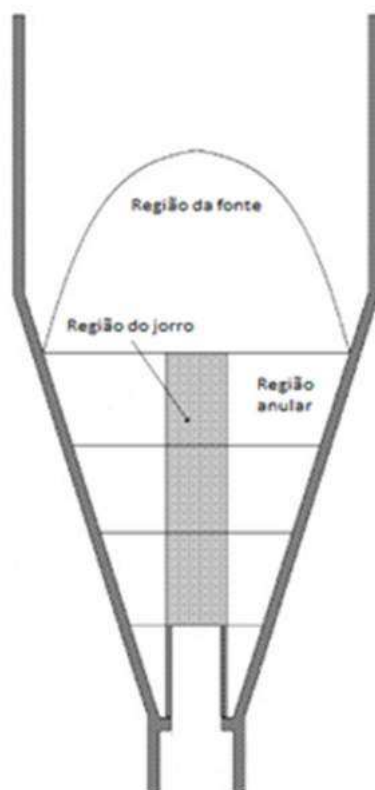


Figura 2.6. Regiões características do Leito de Jorro (BERNOCCO et al., 2013)

O leito de jorro (Figura 2.6) é formado por um vaso, aberto no topo, no qual são colocadas partículas sólidas. Possui uma pequena abertura centralizada em sua base, através da qual a injeção de fluido ocorre. Se a taxa de injeção de fluido for alta o bastante, uma corrente de partículas começa a se mover verticalmente acompanhando o escoamento do fluido através de uma cavidade formada no centro do leito, chamada

jorro. Situado na parte central do leito de partículas, o jorro é uma região com baixa concentração de sólidos, na qual as partículas são arrastadas pelo fluido, ascendendo rapidamente até atingirem o topo da fonte formada. As partículas, então, invertem o sentido do seu movimento, caindo em forma de fonte na região anular, que fica entre a cavidade por onde o fluido e as partículas sólidas estão ascendendo e a parede do leito. Esta região caracteriza-se por uma alta concentração de sólidos, comportando-se como um leito deslizante. Desta forma, as partículas movimentam-se lenta e descendentemente, em contracorrente com o fluido, até retornarem ao jorro (CUNHA, 2008).

O leito de jorro pode ser, então, dividido em três fases distintas: uma de baixa concentração de sólidos e de movimento ascendente dos sólidos (região do jorro), uma região onde os sólidos invertem o sentido de sua trajetória (região da fonte) e uma outra, de baixa porosidade (região anular), onde as partículas apresentam movimento contracorrente ao fluido.

Na literatura são encontradas diversas alterações do modelo convencional do leito de jorro, dentre as quais se destacam:

- Leito de jorro cônico: Constituído apenas por uma base cônica, esse leito tem como principal vantagem a maior carga, ou seja, para uma mesma altura do leito é possível alimentar uma carga inicial muito maior do que aquela comparada com um leito convencional, no qual o ângulo da base tronco-cônica é igual ao ângulo do leito cônico (LOURENÇO, 2006).
- Leito de jorro com aeração complementar: a porção cônica do leito e/ou a região cilíndrica recebem uma vazão de ar auxiliar, promovendo um aumento da quantidade de ar que escoar nesta região, melhorando, com isso, as taxas de transferência de calor e massa.
- Leito de seção retangular: leito composto de um prisma retangular com uma base de tronco de pirâmide, muito utilizado para o estudo da influência do ângulo da base como uma das variáveis de processo de recobrimento.
- Leito vibro-jorrado: a movimentação das partículas é aumentada pela agitação oriunda de um sistema de vibração localizado na base do leito (CONCEIÇÃO FILHO, 1997).

- Leito de jorro com tubo interno (*draft tube*): O leito de jorro foi provado ser um método eficaz de contato sólido – gás. Contudo, ele possui uma desvantagem se as partículas passarem da região anular para a região de jorro em qualquer nível do leito, resultando, assim, em um comportamento randômico dessas partículas. O tubo *draft* é capaz de aumentar o tempo de residência das partículas nas distintas regiões do leito. (LOURENÇO, 2006). Esta modificação será descrita com mais detalhes a seguir.

A caracterização fluidodinâmica de um leito de jorro pode ser feita por meio da construção de sua curva característica, a qual representa a queda de pressão em função da velocidade e/ou vazão de gás injetado na entrada do leito. A Figura 2.7 apresenta uma curva típica de queda de pressão versus vazão no leito.

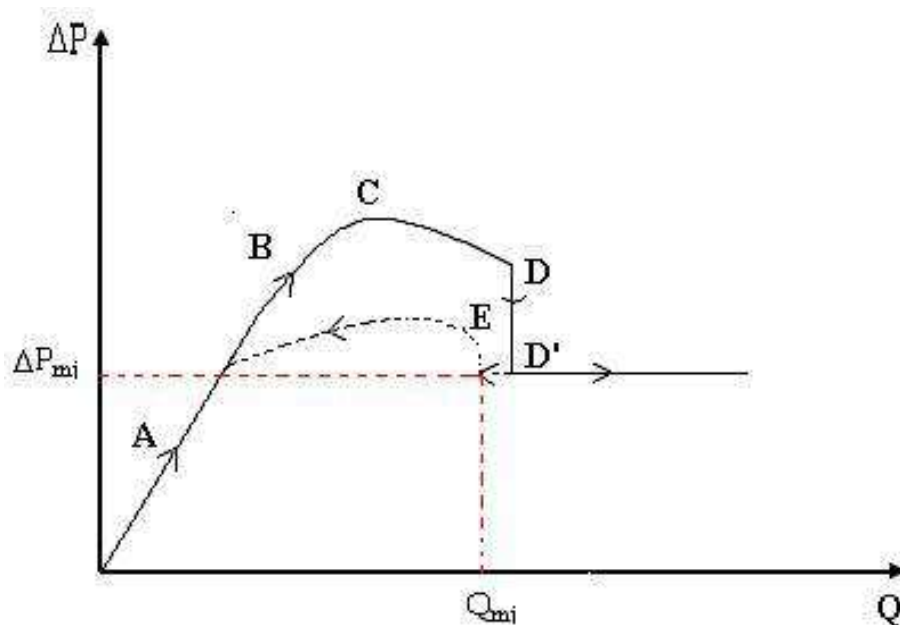


Figura 2.7. Curva característica de um leito de jorro (CUNHA, 2008).

A baixas vazões, o gás simplesmente atravessa o leito fixo, passando pelos espaços vazios em seu interior, sem perturbar o arranjo de partículas. A queda de pressão aumenta linearmente com o acréscimo da vazão (segmento AB da Figura 2.7).

Em uma vazão característica, a velocidade do fluido torna-se alta o suficiente para empurrar as partículas que se encontram nas proximidades do bocal de injeção, formando uma cavidade no leito acima do bocal. As partículas que se encontram ao redor dessa cavidade são comprimidas contra o material acima, formando um arco compacto que oferece uma menor resistência ao escoamento. A queda de pressão no

leito continua a crescer com o aumento de vazão do fluido, mas deixa de apresentar o comportamento linear (segmento BC da Figura 2.7).

Com um acréscimo na vazão do fluido a cavidade alonga-se, iniciando a formação de um jorro em seu interior. O arco de sólidos compactados acima desse jorro faz com que a queda de pressão no leito aumente ainda mais e atinja seu valor crítico, encontrado no ponto C da Figura 2.7.

Um novo aumento da vazão além deste ponto alonga ainda mais o orifício formado pelo jorro interno em comparação com os sólidos compactados acima dessa região. O jorro interno passa a oferecer uma menor resistência ao escoamento do fluido no interior da coluna e a queda de pressão no leito passa a cair à medida que a vazão de entrada do fluido é aumentada (segmento CD da Figura 2.7).

No ponto D, denominado jorro incipiente, muitas partículas são deslocadas do núcleo central, causando uma expansão considerável no leito, podendo ocorrer oscilações acentuadas de pressão nesta região da curva, devido ao surgimento ocasional do jorro no topo do leito.

Com apenas um pequeno acréscimo na vazão além do ponto D, o jorro interno rompe a superfície do leito. Quando isso ocorre, a concentração de sólidos na região diretamente acima do jorro interno decresce abruptamente, causando uma drástica redução na queda de pressão para o ponto D', no qual o leito todo se torna móvel e o jorro é estabelecido.

A partir desse ponto, um novo aumento na vazão do fluido não acarreta mudanças na queda de pressão, uma vez que a quantidade adicional de fluido injetado na coluna tem seu caminho de escoamento na região de jorro, onde é oferecida a menor resistência ao escoamento. A fonte se desenvolve e a circulação de partículas é uniforme, caracterizando o regime de jorro estável.

Uma vez que a condição experimental característica depende do estado inicial de compactação do leito, o valor da vazão do jorro mínimo ( $Q_{jm}$ ) é obtido nesta curva de queda de pressão pelo decréscimo gradual de vazão do fluido até o ponto de colapso do jorro. A vazão de mínimo jorro é definida como a vazão mínima do fluido capaz de romper a estrutura do leito de partículas na região central e formar o jorro, a uma

pressão considerada constante. Esta pressão constante no interior do leito é definida como a queda de pressão do jorro mínimo ( $\Delta P_{jm}$ ). Uma pequena redução da velocidade do gás nesta condição causa o colapso do jorro e um aumento repentino na queda de pressão para o ponto E. Com a diminuição da vazão, a queda de pressão decresce continuamente ao longo do trecho EA. A curva principal, contudo, situa-se numa posição mais baixa do que aquela que representa o acréscimo da vazão, uma vez que a energia requerida pelo jato de gás para penetrar nos sólidos não é mais requerida durante o colapso do jorro.

Na tentativa de superar as limitações apresentadas pela configuração convencional, uma das modificações mais importantes e bem aceitas realizadas sobre a configuração convencional do leito está a inserção de um tubo interno na interface jorro-ânulo (tubo *draft*). Esse tubo pode ser impermeável, poroso ou parcialmente poroso, cilíndrico ou levemente achatado e é inserido apenas alguns centímetros acima da alimentação de ar, podendo assumir diâmetro equivalente ou superior a esta (EPSTEIN; GRACE, 1997).

A inserção do tubo interno interrompe o fluxo cruzado de sólidos e fluido entre as regiões anular e de jorro, permitindo que a operação ocorra acima do valor da altura máxima determinada para o conjunto sólido-fluido-geometria do leito. Adicionalmente, observa-se um melhor controle da circulação de sólidos e uma menor perda de carga durante a operação. Essa modificação permite também estabelecer regimes de jorro estáveis para partículas de reduzida dimensão (EPSTEIN; GRACE, 1997). Nos processos de extração mecânica, a inserção do tubo *draft* ainda aumenta o atrito das sementes contra a parede deste, auxiliando no incremento do rendimento da extração, conforme demonstrado por Cunha et al. (2009).

Alguns estudos foram desenvolvidos objetivando extrair mecanicamente a bixina das sementes de urucum. Neste tipo de extração, as sementes de urucum são forçadas por uma corrente de ar através de um tubo em um extrator de leito de jorro. O atrito das partículas entre si solta a camada superficial da semente e obtém-se bixina em pó com bom rendimento.

Silva (1991) utilizou o leito de jorro para secagem das sementes de urucum, produzindo um concentrado em pó que pode alcançar até 20% de bixina.

Massarani et al. (1992) determinaram experimentalmente a taxa de produção de bixina no leito de jorro com tubo interno e a qualidade do pó produzido, com o objetivo de analisar a viabilidade técnica de produção do concentrado de bixina neste equipamento. A qualidade do pó obtido foi analisada em função do teor de umidade, faixa granulométrica e teor de bixina, analisado por método espectrofotométrico. Os autores confirmaram que a presença do tubo *draft* no interior do leito governa a cinética de atrição.

Ezequias Filho et al. (1994) otimizaram os parâmetros geométricos do tubo interno em função da produção de pó, trabalhando com seis arranjos diferentes para as dimensões geométricas do tubo interno e considerando constantes a massa de sementes, a vazão de entrada de ar e o tempo de processamento.

Vilela et al. (1996) estudaram o processamento de 5 kg de sementes com condições diversas para a vazão de entrada do fluido. Seus resultados mostraram que a massa do pó produzido aumenta com a vazão do ar e que a taxa de produção do pó é inicialmente alta, tendendo a cair com o tempo de processamento.

Passos et al. (1998) demonstraram a facilidade da extração da bixina das sementes de urucum pelo atrito entre as próprias partículas e pelo impacto entre elas. Para isso, foi utilizada uma unidade de leito de jorro para realizar tanto a secagem da semente quanto a extração de bixina. Segundo os autores, a unidade de leito de jorro foi um equipamento eficiente para extrair a bixina, obtendo-se um pó com partículas finas e baixo conteúdo de umidade final, o que são características desejáveis para a comercialização. Os resultados mostraram a promoção da secagem da semente de urucum e a extração da bixina das sementes a baixos custos operacionais.

Mendonça (1999) realizou um estudo do processo de produção de extrato natural de urucum por extração mecânica em um leito de jorro com tubo interno, também concluindo que altas vazões de ar são favoráveis à obtenção de produtividade e que o tempo de processamento não deve ser maior do que 5h.

Tavares et al. (1999) realizaram um estudo de extração mecânica da bixina da semente de urucum utilizando leito de jorro cônico-cilindrico e seus resultados mostraram que as variáveis que mais influenciaram a produtividade foram a presença do

tubo *draft* e a velocidade do ar. Estas duas variáveis também foram as responsáveis pelos maiores teores de bixina no pó extraído.

Por fim, Cunha et. al. (2009) e Barrozo et al. (2013), em trabalhos do grupo de pesquisa em que este trabalho está inserido, estudaram a influência da presença do tubo *draft* não poroso, carga inicial de sementes e vazão de entrada de ar nas respostas produtividade e concentração de bixina no pó extraído.

A unidade experimental utilizada consistia em um leito de jorro cônico-cilíndrico, cuja base foi utilizada neste trabalho. Os autores estudaram a variação da distância entre o tubo *draft* e a base do leito (ht), que possui forte influência nas condições do escoamento do fluido e da partícula, concluindo que, quanto maior o valor de ht maior seria a quantidade de ar que escoava pela região anular, aumentando assim os valores de velocidade e queda de pressão de jorro mínimo.

Os resultados mostraram que a taxa de corante extraído foi inicialmente alta, tendendo a cair com o tempo de processamento. Os autores concluíram que a presença do “*draft*” foi a variável que teve o maior efeito na massa de pó e concentração de bixina, já que sua presença causou uma canalização do ar para a região de jorro, aumentando a velocidade do ar e das sementes nesta região. Como essa região é onde ocorria a maior atrição devido a mais elevada velocidade das partículas, um incremento dessa velocidade, devido à presença do *draft*, favoreceu ainda mais a extração mecânica da bixina.

Uma vez que a presença do tubo interno no interior do leito mostrou ser a variável que governava a cinética de atrição, aumentando significativamente a extração mecânica da bixina, foi estudado o efeito da distância do tubo à base do leito (ht), tendo em vista a maximização da produção do corante. Os resultados experimentais mostraram que a distância do *draft* à base que mais favoreceu o rendimento da extração foi de 4 cm. O presente estudo, que tomou os resultados obtidos por Cunha et. al. (2009) e Barrozo et al. (2013) como referência inicial, adotou esta configuração como padrão.

## **2.7 As técnicas de otimização e superfície de respostas**

Pode-se definir um problema de otimização de sistemas das seguintes maneiras (SECCHI, 2011):



- Campo da matemática dedicado ao desenvolvimento de métodos eficientes de determinação de máximos e mínimos de funções de uma ou mais variáveis;
- A ciência que determina as melhores soluções para certos problemas físicos, que podem ser descritos por modelos matemáticos;
- Busca da melhor solução (solução ótima) dentre as diversas soluções possíveis de um problema, segundo um critério estabelecido previamente.

A otimização tem como vantagens diminuir o tempo dedicado ao projeto, possibilitar o tratamento de uma grande quantidade de variáveis e restrições de difícil visualização gráfica, possibilitar a obtenção de algo melhor com menor custo. Como limitações, tem-se o aumento do tempo computacional quando o número de variáveis de projeto cresce, o surgimento de funções descontínuas que apresentam lenta convergência ou de funções com vários mínimos locais, onde o mínimo global raramente é obtido (LOBATO, 2008).

Tradicionalmente, a resolução de problemas de otimização tem sido obtida pelo uso de métodos determinísticos, que se fundamentaram no cálculo variacional e que fazem uso de informações do gradiente da função objetivo e das restrições para a atualização do projeto inicial adotado, sendo que sua utilização se dá principalmente devido à sofisticação dos recursos computacionais desenvolvidos.

Nos últimos anos, o uso de algoritmos não determinísticos tem atraído a atenção da comunidade científica (LOBATO, 2008). Os algoritmos não determinísticos não fazem uso de informações do gradiente da função objetivo e das restrições mas utilizam procedimentos heurísticos como, por exemplo, os processos de seleção natural e a genética de populações, base dos Algoritmos Genéticos (AG). Um dos algoritmos não-determinísticos de destaque na resolução de problemas de otimização é o de Evolução diferencial (ED), proposto por Price e Storn (1997).

Por tratar-se de um método baseado em Algoritmos Genéticos, o algoritmo ED partilha das mesmas vantagens dos AG e seu sucesso deve-se à sua concepção simples, facilidade de implementação, capacidade de estruturação em arquitetura paralela, habilidade de escapar de ótimos locais e pelos resultados obtidos com diferentes graus de complexidade.

Diversas aplicações podem ser encontradas na literatura utilizando o algoritmo ED, tais como: projeto de filtro digital (STORN, 1995), estimação de parâmetros de transferência de calor em um reator de leito (BABU; SASTRY, 1999), estimação de parâmetros cinéticos em fermentação alcoólica (WANG et al., 2001), otimização das condições operacionais de um reator industrial utilizado para a produção de estireno (BABU; JEHAN, 2003), determinação do perfil ótimo de alimentação de substrato em um problema de controle ótimo com índice flutuante (LOBATO et al., 2007) e otimização da separação sólido-líquido em hidrociclones mediante modificações geométricas (SILVA et al., 2012), sendo os parâmetros operacionais do algoritmo utilizado neste trabalho adotados no presente estudo.

A técnica de superfície de resposta, do inglês *Response Surface Methodology*, é muito utilizada em estudos de otimização e trata-se de uma coleção de métodos estatísticos e matemáticos que são úteis para a modelagem e análise de problemas de engenharia. Nesta técnica, o objetivo principal é obter a superfície de resposta que é influenciada pelas variáveis independentes do processo. Além disso, a técnica também quantifica a relação entre as variáveis de entrada controláveis e as superfícies de resposta obtidas (OZGEN et al., 2009). A grande vantagem da técnica é que a tarefa de adaptação da experimentação ao problema em estudo é realizada antes da realização dos experimentos.

De uma maneira prática, a técnica de superfície de resposta objetiva encontrar valores de previsão de respostas futuras, bem como encontrar os valores das variáveis independentes nos quais a resposta esteja otimizada, ou seja, maximizada ou minimizada conforme a natureza do problema. Assim como o algoritmo de ED, esta técnica também foi utilizada no presente estudo.



## CAPÍTULO 3

### MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Caracterização das Sementes de Urucum

As sementes de urucum foram obtidas em comércio local da cidade de Rio Vermelho no norte de Minas Gerais. Dois lotes de sementes foram utilizados no estudo, ambos provenientes do mesmo fornecedor: o primeiro lote, da safra de 2008, que já havia sido utilizado em estudos prévios do grupo de pesquisa e o segundo lote, da safra de 2013. Os diferentes lotes de sementes foram identificados com os códigos  $L_1$  e  $L_2$ . As sementes foram armazenadas em sacos de polietileno de cor escura em câmara fria a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

A condução dos testes experimentais foi feita dando preferência ao lote mais antigo de sementes ( $L_1$ ), haja vista que estavam em maior quantidade. Os resultados mais promissores obtidos foram replicados no segundo lote de sementes ( $L_2$ ).

As análises de amostras dos dois lotes de sementes foram realizadas no Laboratório de Físico-Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro – Câmpus Uberlândia e no Laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio (ExTrAE), na Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e os procedimentos experimentais são descritos a seguir.

##### 3.1.1 Caracterização Física das Sementes

A determinação da densidade aparente das sementes de urucum, provenientes de Rio Vermelho (MG), foi feita através do Método Picnométrico. Esta análise foi realizada em 10 amostras de sementes, cada qual com um número pré-definido de partículas, utilizando-se para isto picnômetros de 50 mL, uma balança analítica (Marca GEHAKA, Modelo AG 200), uma estufa (Marca FANEM, Modelo 315 SE) e n-hexano como fluido de análise. A escolha do n-hexano foi baseada nos seguintes fatores:

- baixa densidade relativa em relação à densidade da semente;
- baixa solubilidade do corante em pó existente na camada superficial das sementes neste solvente;

- baixa absorção do solvente pelas sementes.

Para a determinação do diâmetro  $d_p$ , foi também utilizado o método picnométrico. A partir dos resultados coletados da densidade das sementes de urucum, foi possível encontrar o volume de sementes contido no picnômetro. Como o número total de sementes em cada picnômetro é conhecido, o volume médio da semente de urucum pode ser obtido.

O diâmetro médio da esfera de mesmo volume da semente pode ser calculado, igualando o volume individual de cada partícula ao volume de uma esfera, resultando na Equação (3.1) apresentada a seguir:

$$d_p = \sqrt[3]{\frac{6 \cdot V_p}{\pi}} \quad (3.1)$$

em que:  $V_p$  é o volume da semente de urucum e  $d_p$  é o diâmetro médio da esfera de mesmo volume da partícula.

A esfericidade de uma partícula é a medida que representa o quanto o formato desta se distancia do formato de uma esfera. Representada pela letra grega  $\phi$ , é definida como a relação entre a área superficial da esfera de mesmo volume que a partícula, pela área superficial da partícula e seu valor varia entre 0 e 1, sendo este último valor a representação de uma esfera perfeita. A esfericidade  $\phi$  foi calculada, então, por meio da expressão:

$$\phi = \frac{\pi \cdot (d_p)^2}{A_p} \quad (3.2)$$

em que:  $A_p$  é a área da partícula, calculada por aproximação das sementes com a forma geométrica de uma pirâmide. Para evitar erros, as dimensões de 10 sementes foram medidas com paquímetro, a fim de se calcular uma área média.

### 3.1.2 Caracterização Química das Sementes

As sementes de ambos os lotes foram caracterizadas em termos de sua umidade, teor de proteínas, cinzas, lipídios totais e teor de bixina.

A umidade, teor de proteínas e cinzas foram determinados de acordo com os métodos oficiais recomendados pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1997).

A quantidade de óleo na semente foi determinada por análise gravimétrica, evaporando até a completa secagem o volume total do extrato obtido em uma extração convencional conduzida em Soxhlet utilizando hexano (P.A., Synth) a 50 °C por 8 h. Para comparar o desempenho deste método com a extração supercrítica na extração do óleo das sementes, outra extração foi conduzida nas condições supercríticas utilizadas nos experimentos (CO<sub>2</sub> a 400 bar e 50°C), também durante 8h. A fim de avaliar a qualidade nutricional do óleo de urucum obtido, as duas amostras foram caracterizadas em termos de ácidos graxos livres, de acordo com o método oficial Ce 1-62 (AOCS, 2004) e conteúdo de tocois totais (tocoferóis e tocotrienóis), segundo a metodologia Ce 8-89 (AOCS, 2004).

O teor de carboidratos foi obtido considerando-se a diferença entre o total de constituintes (100 %) e o percentual dos demais componentes. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 3.1.2.1 Determinação da Concentração de Bixina

Para a determinação do teor de bixina no extrato obtido e nas sementes foi utilizado o método espectrofotométrico recomendado pela JEFCA/FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2006). Os extratos obtidos foram devidamente pesados em balões volumétricos de 2 mL e diluídos em acetona (P.A., marca Synth) até as concentrações adequadas para a análise de bixina em espectrofotômetro.

Testes de diluição foram conduzidos para garantir que os extratos fossem analisados na faixa adequada, ou seja, aquela que fornece uma leitura de absorbância da amostra variando entre 0,2 a 1,0. A absorbância das amostras foi medida em cubeta de quartzo de 1 cm, em comprimento de onda de 487 nm, utilizando um espectrofotômetro UV visível (Perkin Elmer Lambda 40). Todas as medidas foram realizadas em triplicata. O teor de bixina nas amostras foi calculado utilizando a Lei de Lambert-Beer, utilizando  $E_{1cm}^{1\%} = 3090$  (JEFCA/FAO, 2006b), por meio da equação:

$$Bixina (\%) = \frac{A * V_1 * ... * V_n * 100}{E * m_{amostra} * V'_1 * ... * V'_n} \quad (3.3)$$

em que:

A = absorvância média das amostras (adimensional)

$V_i$  = Volume da diluição ( $i = 1, 2, \dots, n$ )

E = Coeficiente de absorvidade (igual a 3090 para a Bixina)

$m_{amostra}$  = massa da amostra utilizada na análise, em gramas

$V'_i$  = Volume da alíquota para diluição ( $i = 1, 2, \dots, n$ )

### 3.1.2.2 Análise de Geranilgeraniol

O método de detecção e quantificação do geranilgeraniol nas sementes foi desenvolvido no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), na cidade de Campinas – SP reportado por Silva et al., 2010. O geranilgeraniol foi extraído das sementes de urucum por refluxo com hexano. Após evaporação do solvente, o óleo resultante foi retomado na fase móvel e injetado em um cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado a um detector de arranjo de diodos. As condições analíticas foram as seguintes: coluna cromatográfica RP-18 com 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno com partículas de 5  $\mu$ m. A fase móvel foi constituída de metanol:acetato de amônia (90:10 v/v) com uma vazão isocrática de 1,0 mL/min. O método mostrou-se seletivo para o geranilgeraniol e linear na faixa de trabalho aplicada.

## 3.2 Extração Convencional da Bixina

Para a determinação do teor de bixina nas sementes de urucum, foi feita uma extração convencional das sementes ( $L_1$  e  $L_2$ ) com clorofórmio a 50°C (mesma temperatura utilizada na extração com fluido supercrítico). O clorofórmio foi escolhido para a extração baseado nos trabalhos de Silva et. al. (1994) cujos resultados mostraram que, além do bom desempenho do clorofórmio como solvente para extração, temperaturas abaixo de 80°C causam mínima degradação na bixina das sementes. Para efeito de comparação, a mesma extração foi feita utilizando água, também na temperatura de 50°C.

As duas extrações foram realizadas nos 2 lotes de sementes ( $L_1$  e  $L_2$ ), totalizando 4 extrações convencionais. A Figura 3.1 apresenta o sistema montado para a realização das extrações.



Figura 3.1. Extração convencional da bixina do urucum

As extrações foram feitas em uma célula de equilíbrio (b), cujo conteúdo ficou sob constante agitação por meio de um agitador magnético (c). A célula de equilíbrio foi acoplada a um recirculador (d), para impedir a perda de substâncias voláteis. Dois banhos termostatizados foram ligados ao equipamento: o primeiro (a), mantido a 50 °C, foi conectado à célula de equilíbrio; o segundo (e), mantido a 5 °C, foi conectado ao recirculador.

Aproximadamente 5g de sementes foram pesadas e continuamente agitadas em bateladas de 50mL de solvente (clorofórmio ou água), tendo sido feitas 2 trocas de solvente durante toda a operação, até o completo esgotamento das sementes. O solvente presente no extrato foi evaporado em evaporador rotativo e os extratos secos foram armazenados protegidos da luz, sob refrigeração em temperatura de -18°C para posterior análise do teor de bixina.

### 3.3 Extração em Leito Fixo

#### 3.3.1 A Unidade Experimental

Os experimentos foram realizados em uma unidade experimental de bancada, no Laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio (ExTrAE) da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp. A Figura 3.2 apresenta um diagrama esquemático da unidade experimental utilizada.



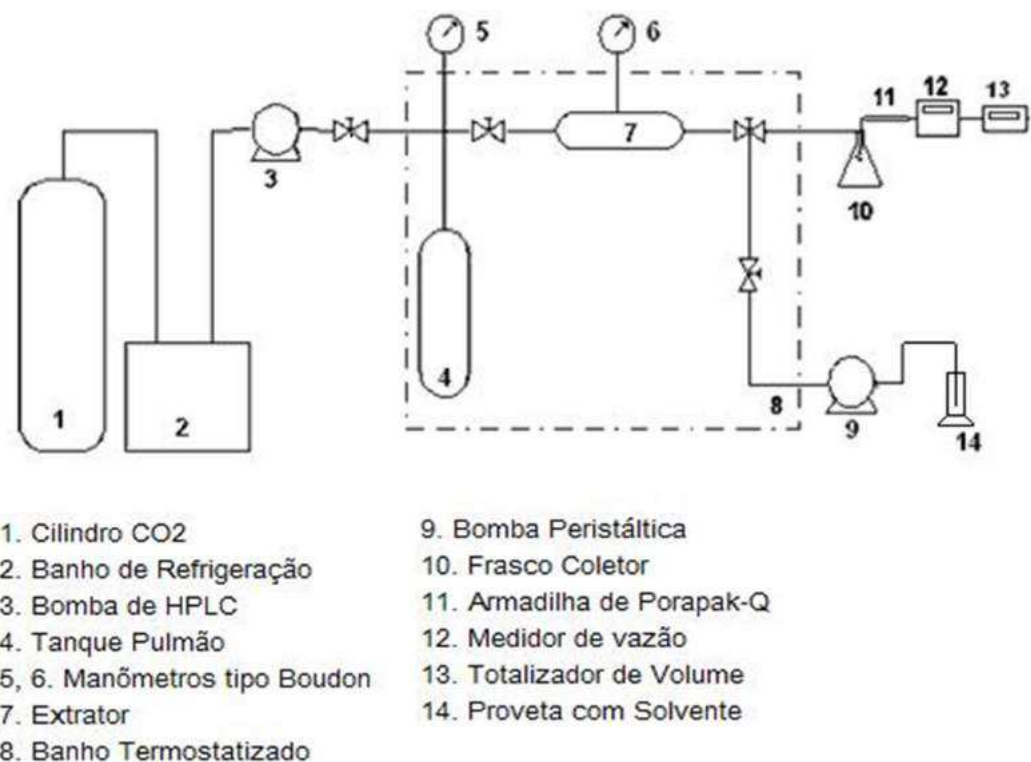


Figura 3.2. Desenho Esquemático da Unidade de Extração Supercrítica utilizada

A unidade era composta de um cilindro de CO<sub>2</sub>, conectado a um banho termostaticado (Cole-Parmer, Polystat 12101-31) mantido a -10°C, para manter o CO<sub>2</sub> no estado líquido. O bombeamento do CO<sub>2</sub> do cilindro para o tanque pulmão e posteriormente para o extrator (previamente empacotado com a amostra) era feito por meio de uma bomba de HPLC (ELDEX, Modelo: AA-100-S), utilizada para fluxos em altas pressões.

O sistema contava também com diversas válvulas tipo agulha (Autoclave Engineers), que permitiam que o fluxo fosse interrompido ou estabelecido em diversos pontos. O tanque pulmão e o extrator (Figura 3.3) foram construídos em aço inox AISI 316 e tinham capacidades, respectivamente, de 500 e 50 mL, tendo sido fornecidos pela empresa Suprilab.

Dentro do tanque pulmão, a pressão era controlada através de manômetro tipo Bourdon (fornecido pela empresa Record). O sistema contava com um banho termostaticado, sempre aferido à 50°C antes da pressurização, para evitar que, após o aquecimento, o CO<sub>2</sub> dentro do tanque pulmão sofresse um aumento de volume e pressão, o que poderia danificar o manômetro (Figura 3.4).



Figura 3.3. Extrator utilizado no leito fixo

A temperatura do banho termostatzado era monitorada por termopares conectados a um indicador de temperatura, e também eram ocasionalmente aferidas com termômetro de mercúrio. Após a saída da linha, o CO<sub>2</sub> passava por um medidor de vazão (Cole-Parmer, 32908-69) para quantificar, efetivamente, quanto solvente passou pela linha.



Figura 3.4. A unidade experimental utilizada em extrações em leito fixo

No caso da extração etanólica a alta pressão, a pressurização do sistema era feita por outra bomba de HPLC, conectada a uma bureta preenchida com etanol. A pressurização com líquido era feita no mesmo extrator utilizado anteriormente apenas isolando o tanque pulmão. Após cada experimento, a tubulação do sistema podia ser lavada com solvente específico (no caso, etanol), para recuperação das amostras aderidas às paredes, utilizando uma bomba peristáltica (Cole-Parmer, Masterflex 77200-62) também conectada ao sistema.

### *3.3.2 O Procedimento Experimental*

A primeira etapa de montagem do sistema era o preenchimento do extrator com, aproximadamente, 15 g de sementes de urucum, posicionadas na saída do extrator. O restante do volume era completado com pérolas de vidro de 5 mm. Esta montagem, que deixava o sistema completamente cheio, fazia com que o dióxido de carbono supercrítico e o etanol ou mistura etanólica fossem forçados a passar entre as partículas, facilitando a solubilização dos compostos de interesse. O sistema era, então, montado e o tanque enchido de água até completa cobertura do extrator e das válvulas.

O banho termostatizado era aferido a 50 °C e procedia-se o teste de pressurização, que consistia em pressurizar o tanque pulmão até a pressão desejada e depois, o extrator, sempre atento aos possíveis vazamentos. Quando o tanque pulmão atingia a pressão pré-estabelecida, abria-se a válvula que o conectava ao extrator e iniciava-se assim a pressurização completa do sistema. Para verificação da presença de vazamentos, a válvula de saída do tanque pulmão era fechada e o extrator mantido fechado e pressurizado por 20 min. Se houvesse queda de pressão, o banho termostatizado seria esvaziado para aperto do ponto de vazamento (facilmente visualizável, por causa do borbulhamento através do ponto de vazamento submerso em água). Caso não houvesse queda de pressão, aferida pelo manômetro, a extração poderia ser iniciada.

Os experimentos em leito fixo foram conduzidos seguindo uma ordem de execução, conforme mostra, de maneira resumida, o fluxograma apresentado na Figura 3.5. No fluxograma também estão apresentados os objetivos de cada uma das extrações, cujos parâmetros operacionais estão detalhados mais adiante, e a quantidade realizada.

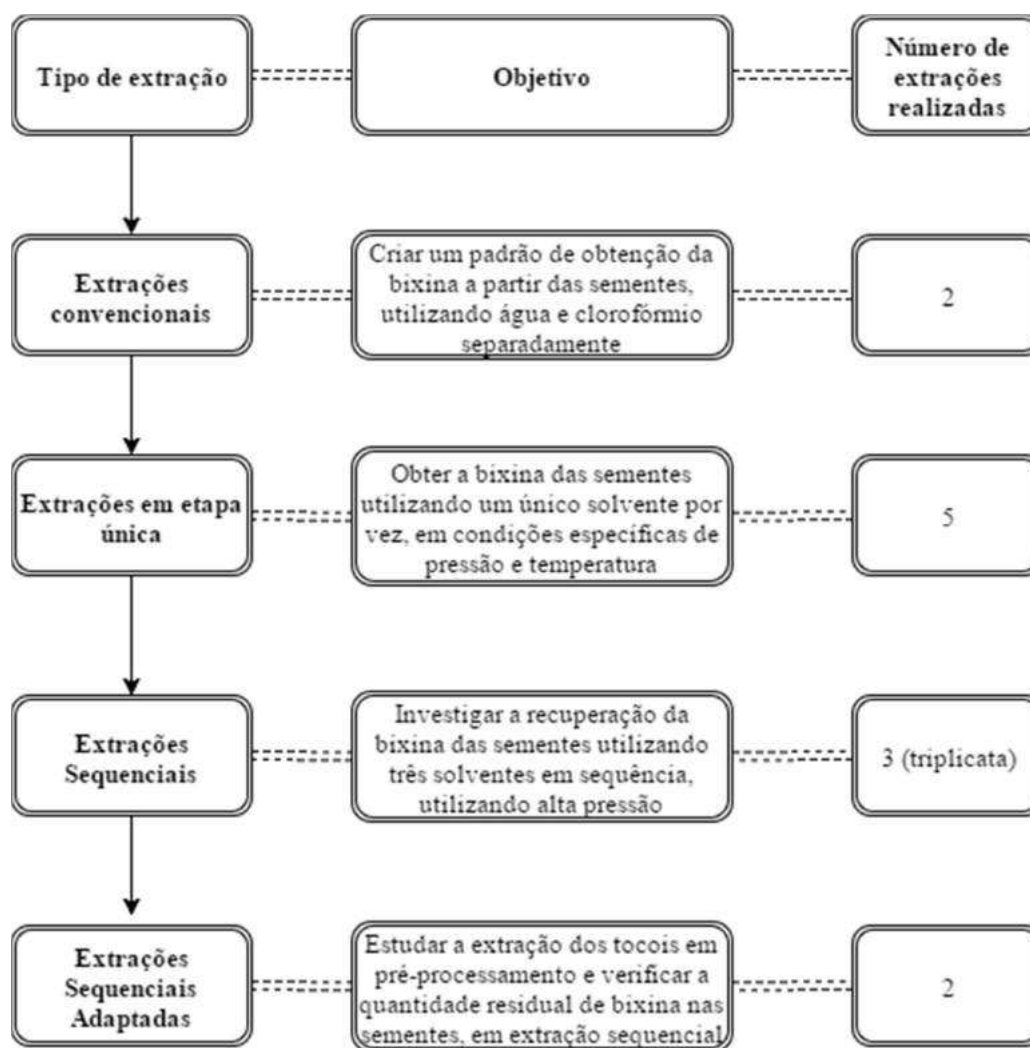


Figura 3.5. Diagrama esquemáticos das extrações realizadas

### 3.3.2.1 Extração em Etapa Única (U)

Para a obtenção das respostas que definiriam os tempos de extração para cada etapa a serem utilizados na extração sequencial foram realizadas 5 extrações independentes utilizando um único solvente, codificadas pela letra U. Nestas extrações, as amostras eram recolhidas ao longo do tempo, de modo a construir uma curva de extração que permitisse observar a região mais próxima ao esgotamento das sementes. A Tabela 3.1 mostra a sequência de retirada de amostras do extrator a fim de construir-se a cinética dos experimentos:

Tabela 3.1. Amostragem das extrações cinéticas

<b>Amostra</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>Amostra</b>	<b>tempo</b>
<b>1</b>	10	<b>6</b>	15
<b>2</b>	10	<b>7</b>	15
<b>3</b>	10	<b>8</b>	30
<b>4</b>	15	<b>9</b>	30
<b>5</b>	15	<b>10</b>	60

Caso o experimento previsse mais do que 10 amostras (devido ao maior tempo total), amostras eram recolhidas de 60 em 60 min. a partir da décima amostra. A Tabela 3.2 mostra as condições operacionais em que as extrações em etapa única foram conduzidas, considerando o primeiro lote de sementes (L1):

Tabela 3.2 Extrações com um único solvente – Lote 1

<b>Código</b>	<b>Solvente</b>	<b>Vazão Solvente</b>	<b>T (°C)</b>	<b>P (bar)</b>	<b>t (min)</b>
U1	CO <sub>2</sub>	1,5 L/min	50	400	300
U2	Etanol	0,5 mL/min	50	5	540
U3	Etanol	0,5 mL/min	50	400	540
U4	Etanol-Água	0,5 mL/min	50	5	540
U5	Etanol-Água	0,5 mL/min	50	400	540

O tempo de cada extração foi determinado por meio de testes iniciais, considerando tanto a observação da coloração de extrato que caía nos frascos de penicilina quanto a verificação dos valores de bixina, uma vez construída a curva de extração. O tempo inicial estimado, de seis horas para todas as corridas, mostrou-se insuficiente para as corridas 2 a 5 e superestimado para a corrida 1. Desse modo, estipulou-se o tempo de 5 horas para o ensaio 1 e 9 horas para as demais. Os ensaios U2 e U4 foram considerados como ocorrendo à pressão ambiente; a pressão de 5 bar fornecida era apenas para garantir o preenchimento do leito pelo solvente e maior contato entre este e as sementes.

Analogamente, foram realizados experimentos com o segundo lote de sementes (L2). O delineamento da tabela considerou os resultados experimentais advindos dos experimentos acima mencionados com a inserção de 2 horas a mais de experimento, a

fim de aumentar a recuperação de bixina. Assim, para o segundo lote de sementes, foram realizados somente 2 ensaios, conforme mostra a Tabela 3.3:

Tabela 3.3. Extrações com um único solvente – Lote 2

<b>Código</b>	<b>Solvente</b>	<b>Vazão Solvente</b>	<b>T (°C)</b>	<b>P (bar)</b>	<b>t (min)</b>
U'1	Etanol	0,5 mL/min	50	5	660
U'2	Etanol	0,5 mL/min	50	400	660

Todas as amostras obtidas ao longo do tempo, em cada experimento, foram submetidas à secagem em evaporador rotativo (Marca: MARCONI) à 50°C utilizando vácuo de 700-750 mmHg. Uma vez que os frascos de penicilina eram devidamente pesados e identificados antes de receberem as amostras, uma nova pesagem era realizada após a secagem, de modo a obter as massas de extrato em cada amostra retirada.

### 3.3.2.2 Extração Sequencial (S)

Os experimentos para a determinação da cinética de extração utilizando diferentes solventes em sequência foram realizados nas mesmas condições operacionais anteriormente citadas, e estão apresentadas na Tabela 3.4. Nestes experimentos não houve variação de pressão (fixada em 400 bar) nem de temperatura (mantida em 50°C).

Tabela 3.4 Extrações sequenciais – Lote 1

<b>Código</b>	<b>Solvente</b>	<b>Vazão Solvente</b>	<b>T (°C)</b>	<b>P (bar)</b>	<b>t (min)</b>
S1; S2; S3	CO <sub>2</sub>	1,5 L/min	50	400	210
	Etanol	0,5 mL/min	50	400	360
	Etanol-Água	0,5 mL/min	50	400	360

A escolha da pressão deveu-se ao fato de a maioria dos trabalhos que estudaram a extração da bixina do urucum terem utilizado pressões até 300 bar. A temperatura de 50 °C foi estratégica neste trabalho, uma vez que altas temperaturas tendem a favorecer a extração e temperaturas acima de 60 °C podem degradar a bixina. Característica de uma extração sequencial, o experimento foi conduzido em etapas distintas e subsequentes.

Em cada um destes experimentos, os solventes utilizados foram sequencialmente injetados no sistema sem a renovação das sementes, caracterizando a extração sequencial. Esta extração foi realizada em triplicata para verificação da repetibilidade dos resultados obtidos. Nos dois primeiros experimentos da triplicata (S1 e S2), amostras foram retiradas ao longo do tempo de modo a construir uma curva de extração (seguindo a mesma lógica de amostragem apresentada na Tabela 3.1). No terceiro experimento da triplicata (S3), uma amostra foi recolhida somente no tempo final de cada etapa da extração, para evitar as interferências da amostragem na execução do experimento. Estes três ensaios foram realizados somente com o primeiro lote de sementes.

Na primeira etapa do ensaio (extração supercrítica), o tanque pulmão era pressurizado com CO<sub>2</sub> (White Martins; 99,5%) até atingir 420 bar, sendo o extrator pressurizado lentamente até que ambos atingissem a marca de 400 bar. Após o teste de pressurização, iniciava-se a contagem do tempo de extração e coleta das amostras respeitado o tempo previamente determinado. O CO<sub>2</sub> no estado gasoso que passava pelo extrator era conduzido a um medidor de vazão e totalizador para quantificar o dióxido de carbono que passava pelo sistema e verificar a calibração da bomba. O tempo total de extração supercrítica foi de 3 horas e 30 minutos.

Na segunda etapa, o sistema de bombeamento de CO<sub>2</sub> era isolado e uma bomba peristáltica, posicionada abaixo do equipamento, era acionada para injetar etanol dentro do sistema, cuja saída encontrava-se fechada. Foi utilizado etanol absoluto P.A. (marca: Synth), cuja vazão de bombeamento foi de 0,5 mL/min.

O etanol foi estocado em proveta graduada para visualização e verificação do volume total inserido no sistema. Após alguns minutos de pressurização, o sistema elevava sua pressão rapidamente, característica própria dada pela incompressibilidade dos líquidos. Após atingir a pressão de 400 bar requerida, a bomba era desligada e o sistema todo fechado durante 40 min, para verificar o aparecimento de vazamentos (aferidos pela queda de pressão facilmente observada no manômetro). Era dada, então, continuidade ao experimento, com uma sequência de amostragem igual à adotada na extração supercrítica, porém com maior duração total.

Na terceira etapa a mesma bomba peristáltica era utilizada, bombeando uma mistura 70-30% (v/v) de etanol e água. O mesmo procedimento de extração descrito para a segunda etapa foi adotado. Todos os frascos de penicilina com as amostras foram devidamente identificados e armazenados em *freezer* (-18°C) embrulhados em papel alumínio, para protegê-los da ação da luz.

O tempo total de duração das extrações sequenciais (S) foi o maior dentre todos os experimentos realizados (15h 30min). O objetivo foi garantir um contato efetivo entre as sementes e o solvente puro, uma vez que, durante o período de troca de solventes acontecia uma mistura entre o solvente utilizado e o que ocupava anteriormente o leito fixo.

Os mesmos procedimentos de armazenamento e secagem das amostras foram adotados, a fim de se obter as massas de extrato para determinação do rendimento global da extração. Devido aos resultados experimentais obtidos, os experimentos sequenciais (S) não foram replicados no segundo lote de sementes.

### 3.3.2.3 Extração Sequencial Adaptada (SA)

A última fase da extração (SA) foi realizada utilizando uma adaptação da metodologia de Albuquerque e Meireles (2012) e Rodrigues et al. (2014), e consistiu em uma extração sequencial com CO<sub>2</sub> supercrítico seguida de extração com solvente à pressão ambiente (Tabela 3.5). Nesta etapa foram utilizados como solventes o etanol e a mistura entre etanol e água (70:30 v/v) nas sementes do Lote 1.

Tabela 3.5. Extrações Sequenciais adaptadas – Lote 1

<b>Código</b>	<b>Solvente</b>	<b>Vazão Solvente</b>	<b>T (°C)</b>	<b>P (bar)</b>	<b>t (min)</b>
SA1	CO <sub>2</sub>	1,5 L/min	50	400	120
	Etanol	0,5 mL/min	50	5	420
SA2	CO <sub>2</sub>	1,5 L/min	50	400	120
	Etanol-Água	0,5 mL/min	50	5	420

Estas duas extrações, também sequenciais, foram feitas para avaliar a eficiência do CO<sub>2</sub> como pré-tratamento das sementes, aliando-o à extração a baixas pressões, que já haviam retornado uma maior recuperação de bixina.



Com base nos resultados obtidos, as extrações sequenciais adaptadas também foram realizadas no segundo lote de sementes (Tabela 3.6). A diferença entre os testes ficou a cargo da supressão da mistura etanol-água e sua substituição por etanol pressurizado.

Tabela 3.6 Extrações sequenciais adaptadas – Lote 2

Código	Solvente	Vazão Solvente	T (°C)	P (bar)	t (min)
SA'1	CO <sub>2</sub>	1,5 L/min	50	400	120
	Etanol	0,5 mL/min	50	5	420
SA'2	CO <sub>2</sub>	1,5 L/min	50	400	120
	Etanol	0,5 mL/min	50	400	420

Esta etapa finalizou as extrações feitas no equipamento descrito na Figura 3.2. Foram realizados 19 ensaios de extração e todas as amostras devidamente secas e pesadas, foram armazenadas seguindo os mesmos procedimentos: ausência de luz (proteção das amostras com papel alumínio) e congelamento (temperatura de - 18°C).

### 3.3.3 Respostas Experimentais

#### 3.3.3.1 Rendimento Global da Extração ( $X_0$ )

Como parâmetro comparativo entre os diferentes métodos de extração, empregou-se o rendimento global de extração, o qual expressa a relação entre a massa de extrato seco obtido no processo e a massa de sementes de urucum empregada no processo de extração; este rendimento é expresso em porcentagem. O rendimento global ( $X_0$ ) foi calculado relacionando a massa total ( $M_{extrato}$ ) de extrato e a massa de alimentação de matéria-prima em base seca ( $M_{sementes}$ ), de acordo com a Equação 3.4:

$$X_0 = \frac{M_{extrato}}{M_{sementes}} * 100\% \quad (3.4)$$

Ao final das extrações com todas as condições estabelecidas, os valores de rendimento global ao longo do tempo foram apresentados em gráficos a fim de se observar o seu comportamento em diferentes etapas em cada uma das extrações realizadas: convencional, etapa única, sequencial e sequencial adaptada.

### 3.3.3.2 Porcentagem de Bixina no Extrato ( $C_0$ )

Com o objetivo de determinar, dentre os diferentes métodos de extração, aquele que resultou nos mais puros extratos obtidos, foi determinada a porcentagem de bixina presente em cada extrato. Esta resposta calculada é expressa pela relação entre a massa de bixina (g) e a massa de extrato seco obtidos no processo; este teor também é expresso em porcentagem, de acordo com a equação:

$$C_0 = \frac{M_{bixina}}{M_{extrato}} * 100 \% \quad (3.5)$$

### 3.3.3.3 Rendimento (Q) e Recuperação de Bixina (R)

Uma vez que as massas utilizadas nos experimentos apresentaram variação entre um experimento e outro, foi priorizado (na comparação entre os ensaios) um cálculo de mais um adimensional, que relacionou a massa de bixina obtida com a massa da matéria-prima utilizada no ensaio. Esta resposta calculada é expressa pela relação entre a massa de bixina (g) recuperada e a massa de sementes utilizada em cada ensaio; a equação demonstra como o cálculo foi efetivado:

$$Q = \frac{M_{bixina}}{M_{sementes}} * 100 \% \quad (3.6)$$

Uma vez que os rendimentos de bixina geralmente são baixos, haja vista que o pigmento se encontra apenas na camada externa das sementes, e para dar uma real dimensão quantitativa do corante que foi recuperado, criou-se o adimensional Recuperação (R), calculado por meio da relação entre o rendimento (Q) da extração em si e o rendimento da extração (Q) tomado como referência, ou 100%. A equação 3.7 mostra a relação utilizada para cálculo:

$$R = \frac{Q_{experimental}}{Q_{referência}} * 100 \% \quad (3.7)$$

### 3.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura

As sementes de urucum in natura e após processamento em algumas das condições experimentais foram submetidas à microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), técnica utilizada para avaliação, exame e análise das características microestruturais de amostras. As amostras de sementes foram fixadas no porta-amostras

e revestidas com uma camada de ouro com uma espessura aproximada de 20 nm e, em seguida observada com uma tensão de aceleração de 10.00 KV. As dimensões das amostras foram determinadas usando o *software* SmartSEM como processador de imagens.

### 3.4 Fracionamento dos extratos

#### 3.4.1 A Unidade Experimental

Os experimentos de fracionamento também foram realizados em uma unidade experimental de bancada, no Laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio (ExTrAE) da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp. A unidade experimental utilizada no fracionamento dos extratos, que também envolve a utilização de tecnologia supercrítica, está apresentada, de modo sucinto, na Figura 3.6.

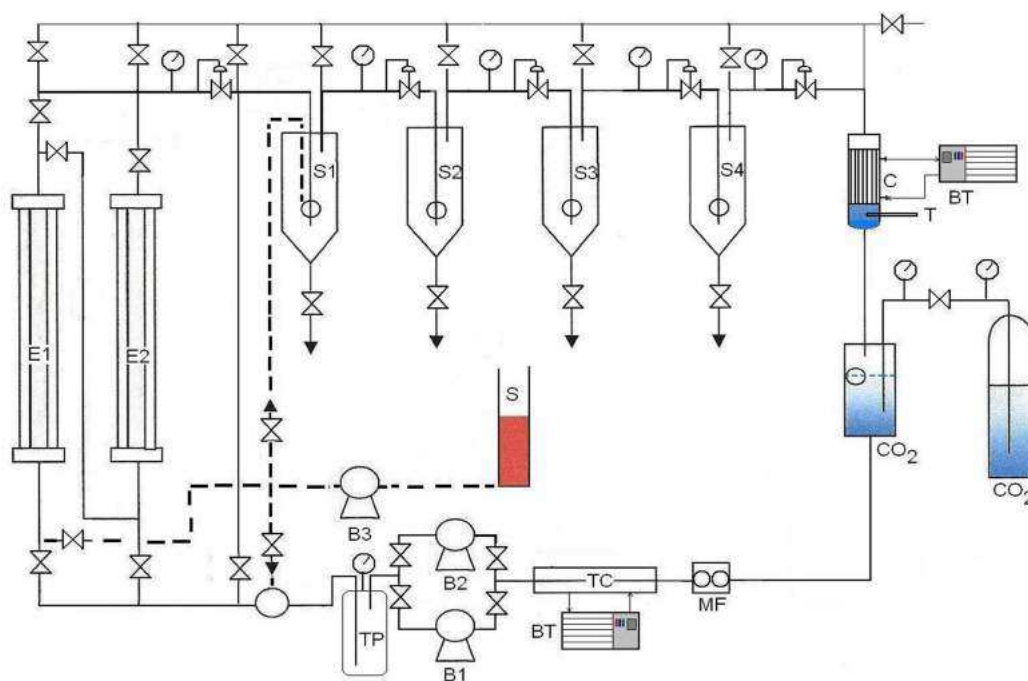


Figura 3.6. Desenho esquemático do fracionador de extratos

A Unidade é composta por um cilindro de CO<sub>2</sub>, fornecido pela empresa White Martins, conectado a um tanque de armazenamento (Os tanques estão representados no esquema pela sigla CO<sub>2</sub>) e a um medidor de fluxo, que quantifica o CO<sub>2</sub> que entra no sistema (MF). Neste sistema está inserido um banho termostático (BT) mantido a -10°C e um trocador de calor (TC), que evita o aquecimento do CO<sub>2</sub> até a temperatura ambiente. Todo este sistema está protegido por uma espuma de poliuretano ao redor da

tubulação. O CO<sub>2</sub> pressuriza um tanque pulmão (TP), mantido na mesma pressão da extração a ser realizada em um dos extratores (E1 ou E2), onde a amostra estará empacotada.

Dos extratores, a linha segue para 4 tanques separadores (S1-S4), que podem representar um gradiente de pressão, uma vez que cada entrada do separador conta com uma válvula de contrapressão (*back-pressure*). A Figura 3.7 mostra o interior de um dos extratores (a) e uma vista superior dos dois extratores (b).

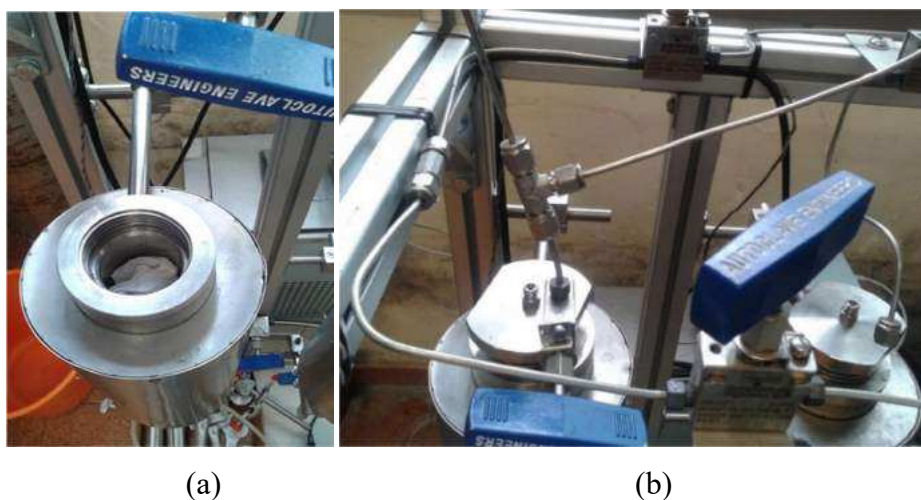


Figura 3.7. Detalhes do fracionador de extratos

Tanto o tanque pulmão, os extratores e os separadores estão conectados a manômetros, tipo bourdon, individualizados, o que permitiu a aferição da pressão para fracionamento da extração. A Figura 3.8 mostra os 4 separadores, as válvulas reguladoras de pressão e, ao fundo, o totalizador de CO<sub>2</sub> que passa pelo sistema.



Figura 3.8. Separadores pertencentes ao fracionador

Os extratores, válvulas e separadores eram encamisados e possuíam sistema de aquecimento individual, o que permitiu aquecimento de cada um separadamente possibilitando, inclusive, o estudo do gradiente de temperatura na extração.

O gradiente decrescente de pressão, que acaba na pressão ambiente (CO<sub>2</sub> gasoso) era conduzido pela linha para o meio exterior. Após a realização dos ensaios, o sistema poderia ser lavado com solvente específico, representado pela letra S na Figura 3.6, e toda a linha era novamente pressurizada, para limpeza e coleta das amostras aderidas às paredes. Os separadores podiam ser lavados individualmente.

#### *3.4.2 O procedimento Experimental*

A primeira etapa para montagem do sistema era o preenchimento do extrator com, aproximadamente, 200 g de sementes de urucum, posicionadas na saída do extrator (fração superior). As sementes eram previamente empacotadas em sacos de nylon feitos sob medida, com o objetivo de evitar entupimento da linha por material particulado. Todo o aquecimento da linha era ligado e ajustado para extração a 50°C.

Após a montagem do sistema, iniciava-se a pressurização do tanque pulmão, até atingir a pressão escolhida para a extração. Devido a problemas operacionais (capacidade da bomba), a pressão máxima utilizada, para o fracionamento, foi de 300 bar. Os separadores eram, então, pressurizados até as pressões desejadas, formando um gradiente de pressão – 250 bar (S1), 150 bar (S2), 80 bar (S3) e pressão ambiente (S4). A seguir, o extrator era pressurizado até atingir a pressão desejada de 300 bar. Uma vez atingidas as pressões desejadas (sistema completamente cheio de CO<sub>2</sub> no estado supercrítico), era aplicado um tempo de espera de 20 minutos, para verificar possíveis vazamentos. Em caso negativo, a válvula que separava o extrator dos separadores era aberta e a contagem do tempo de extração era iniciado.

Foram realizados testes preliminares para verificação da capacidade do extrator em receber 200 g de sementes e a viabilidade de se comparar o desempenho da extração nas sementes inteiras e trituradas, em termos do teor de bixina e geranilgeraniol nos extratos. Inicialmente foram realizadas 2 extrações, para descobrir qual pressão era capaz de recuperar melhor os compostos de interesse. A Tabela 3.7 mostra os experimentos de Fracionamento (Fr) realizados, apenas no segundo lote de sementes.

Tabela 3.7 Parâmetros operacionais dos experimentos de fracionamento - Lote 2

Solvente Utilizado	Sc CO <sub>2</sub>
Vazão do Solvente (L/ min)	1,5
Pressão da extração (bar)	300
Pressão Fracionador 1	250
Pressão Fracionador 2	150
Pressão Fracionador 3	80
Pressão Fracionador 4	ambiente
Temperatura (°C)	50
Tempo (min)	240
Massa das sementes ensaio 1 – inteiras (g)	180,86
Massa das sementes ensaio 2 – trituradas (g)	189,44

O tempo utilizado foi de 4 h, maior do que o utilizado anteriormente para garantir um suficiente tempo de extração, haja vista o aumento da carga de sementes utilizada. A este tempo não foi contabilizado o tempo de despressurização nem de limpeza. Neste tipo de experimento não era feita a cinética, sendo as amostras recolhidas apenas ao final em frascos de penicilina previamente pesados. Após o recolhimento das amostras, o etanol contido nos frascos, advindo da lavagem dos separadores, era evaporado em evaporador rotativo. As amostras eram, então, pesadas e armazenadas protegidas da luz a -18 °C.

Foram realizados 2 experimentos nestas condições, o primeiro com as sementes inteiras e o segundo, com sementes trituradas. As sementes foram trituradas em moinho de facas fornecido pela empresa Marconi (moinho tipo Wiley, modelo MA 340) e o material foi pesado somente após completa passagem pelo moinho.

Após a realização dos ensaios, as amostras foram secas, pesadas e acondicionadas em freezer (-18 °C) protegidas da luz. As amostras foram, então caracterizadas em termos de seu teor de bixina, no próprio laboratório e geranilgeraniol, no Laboratório de Controle de Qualidade do Instituto de Tecnologia de Alimentos, ITAL, na cidade de Campinas - SP.

O diâmetro médio das partículas trituradas foi calculado utilizando o método ASAE (ASAE, 1997), onde a amostra triturada foi colocada em um jogo de peneiras da

série Tyler de tamanho de 12 a 270 mesh e peneiradas durante 15 min com ajuda de um agitador eletromagnético (Modelo 1868, Bertel, SP, Brasil). As diferentes frações retidas nas peneiras foram pesadas em balança semi-analítica. Por meio da Equação 3.8, foi obtido o valor do diâmetro médio geométrico da partícula, que representa uma média ponderada dos diâmetros médios geométricos de cada fração (Equação 3.9).

$$d_{mg} = \log^{-1} \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (w_i \log(\bar{d}_i))}{\sum_{i=1}^n (w_i)} \right] \quad (3.8)$$

$$\bar{d}_i = \sqrt{(d_i * d_{i+1})} \quad (3.9)$$

Nas equações acima,  $d_{mg}$  é o diâmetro médio geométrico,  $d_i$  e  $d_{i+1}$  representam a abertura da peneira  $i$  e  $i+1$ , e  $w_i$  é a massa do material retido na peneira  $i$ .

### 3.5 Extração Mecânica utilizando Leito de Jorro

#### 3.5.1 A Unidade Experimental

A unidade experimental de extração mecânica em leito de jorro encontra-se instalada no Laboratório de Sistemas Particulados da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia e sua unidade esquemática é mostrada na Figura 3.9.

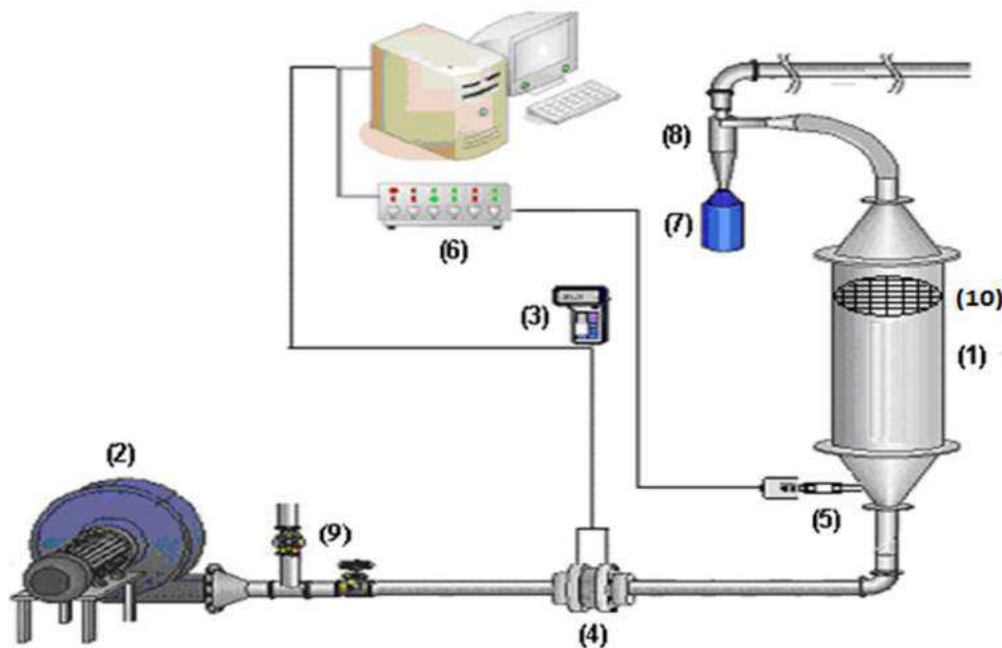


Figura 3.9. Diagrama esquemático da unidade experimental de leito de jorro

A Figura 3.9 mostra o leito de jorro cônico-cilíndrico (1) com visor em vidro ao longo do corpo, um soprador de ar de 7,5 CV (2), uma válvula de gaveta manual (9), uma placa de orifício (4) ligada a um transdutor de pressão diferencial (3). O pó de bixina extraído foi coletado em frasco âmbar (7), protegido da luz, conectado ao *underflow* de um ciclone, tipo Stainmard de 10 cm de diâmetro na parte cilíndrica (8). Os sinais do transdutor de pressão diferencial e absoluta (5) foram transmitidos a um computador por meio de uma placa de aquisição de dados (6) e processados utilizando o *software* LabVIEW<sup>TM</sup> 7.1.

As dimensões do leito de jorro são: ângulo da base cônica de 60°, orifício de entrada do ar de 3,5 cm, diâmetro da seção cilíndrica de 21 cm e comprimento total igual a 85 cm. A este aparato foi acrescentado um tubo *draft* cilíndrico poroso, feito com uma tela de aço inoxidável 8 MESH. As dimensões do tubo utilizado foram 4,5 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento, posicionado a 4 cm da entrada de ar. A presença do tubo *draft*, além de reduzir a vazão de ar necessária para o estabelecimento do jorro, aumenta o atrito entre as partículas e incrementa, assim, a extração mecânica. A distância de 4 cm foi escolhida baseada no resultado obtido no trabalho experimental de Cunha et al. (2009).

Uma modificação importante feita no equipamento no presente trabalho foi a inclusão de um anteparo no interior da parte cilíndrica, composto por uma tela circular de aço inoxidável 8 MESH (10). A tela possuía o mesmo diâmetro interno da parte cilíndrica e permitia que sua posição fosse regulável no sentido do comprimento da parte cilíndrica do leito.

Esta tela representou uma inovação, no sentido de criar uma estrutura física completamente nova haja vista que, em cada experimento, podia-se variar a posição da tela e estudar o seu efeito no rendimento do processo. Este anteparo permitia a passagem do pó, mas não das sementes, contribuindo, também, para aumentar o atrito entre as sementes.

### 3.5.2 O Planejamento Experimental

Um planejamento experimental foi realizado para analisar o efeito de três variáveis independentes em três respostas selecionadas. Também foram conduzidas três



réplicas no ponto central e seis pontos axiais, segundo um planejamento composto central rotacional, totalizando 17 ensaios, como mostra a Tabela 3.8.

Tabela 3.8 Planejamento experimental executado

Variáveis Codificadas				Variáveis Reais		
Ensaio	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	M <sub>s</sub> (kg)	H <sub>a</sub> (cm)	Q/Q <sub>jm</sub>
1	-1	-1	-1	1,70	30	1,24
2	-1	-1	+1	1,70	30	1,8
3	-1	+1	-1	1,70	60	1,24
4	-1	+1	+1	1,70	60	1,8
5	+1	-1	-1	2,30	30	1,24
6	+1	-1	+1	2,30	30	1,8
7	+1	+1	-1	2,30	60	1,24
8	+1	+1	+1	2,30	60	1,8
9	-1,68	0	0	1,05	45	1,525
10	+1,68	0	0	2,50	45	1,525
11	0	-1,68	0	2,00	20	1,525
12	0	+1,68	0	2,00	70	1,525
13	0	0	-1,68	2,00	45	1,05
14	0	0	+1,68	2,00	45	2
15 (PC)	0	0	0	2,00	45	1,525
16 (PC)	0	0	0	2,00	45	1,525
17 (PC)	0	0	0	2,00	45	1,525

As três variáveis independentes escolhidas foram a massa de sementes (M<sub>s</sub>), a posição do anteparo no interior do leito de jorro (H<sub>a</sub>) em relação à base do leito e a relação entre a vazão de ar e a vazão de jorro mínimo (Q/Q<sub>jm</sub>). Testes preliminares foram conduzidos para determinar as mínimas condições de jorro (Q<sub>jm</sub>) para cada carga de sementes, a fim de se compor a terceira variável do planejamento. O jorro mínimo é determinado reduzindo-se vagarosamente a vazão de ar após o estabelecimento do regime de jorro, até o ponto em que há colapso da fonte, denominado “vazão de jorro mínimo”. As três respostas foram a massa de pó (M<sub>p</sub>), a massa de bixina (M<sub>b</sub>) e a pureza do pó, representada pela porcentagem de bixina (%<sub>bix</sub>).

A ordem de execução dos experimentos foi aleatória e os pontos centrais foram executados intercaladamente com ensaios previstos. O nível de significância escolhido foi de 10%, ou seja, todos os valores de t de Student obtidos da análise de variância da regressão que foram maiores do que 0,10 foram considerados como estatisticamente não significativos.

### *3.5.3 O procedimento Experimental*

O seguinte procedimento foi adotado para a execução dos experimentos em leito de jorro: inicialmente o soprador era ligado para eliminar resíduos de pó porventura acumulados na tubulação de ar. Em seguida, o soprador era desligado e o tubo *draft* colocado na região central da parte cônica. A massa das sementes, especificada no planejamento experimental, era, então, pesada e inserida no leito de jorro (parte cônica). A parte cilíndrica era encaixada acima da parte cônica e os parafusos apertados. A seguir, o anteparo era inserido dentro da parte cilíndrica do leito, respeitando a altura delineada pelo planejamento experimental. A parte cônica superior era encaixada, conectando-se a mangueira do ciclone na parte superior do leito de jorro. Para a coleta de amostras, um recipiente de vidro era conectado à parte inferior do ciclone.

Após a montagem do sistema, o soprador era ligado, a vazão era acertada até atingir o valor definido pelo planejamento experimental e a contagem do tempo era iniciada. O tempo total de execução dos experimentos foi de 5 h, baseado em testes preliminares e no trabalho experimental de Cunha (2008), que utilizou 4 h como tempo total. Acima deste tempo, pedaços indesejados da semente (cascas) começavam a ser extraídos reduzindo, assim, o percentual de bixina no pó coletado.

A amostragem era feita coletando-se as amostras em sacos plásticos de polietileno previamente identificados. O sistema de coleta de amostras seguiu o mesmo padrão utilizado nos experimentos utilizando tecnologia supercrítica e apresentado na Tabela 3.1, respeitando o tempo total de 5 horas acima descrito. As amostras foram acondicionadas sob congelamento (-18°C) e protegida da luz, para análises posteriores.

### *3.5.4 Otimização da Extração usando Evolução Diferencial (ED)*

Equações para representar as respostas analisadas (massa de pó, massa de bixina e pureza do pó) como funções das variáveis independentes foram obtidas por meio do

tratamento das respostas experimentais. A otimização do modelo proposto pela técnica de superfície de resposta foi feita utilizando o método de Evolução Diferencial (DE), baseado em operações vetoriais que geram potenciais candidatos à resolução dos problemas de otimização (PRICE; STORN, 1997), de acordo com o trabalho de Silva et al. (2012).

A fim de avaliar a metodologia proposta e considerando a complexidade das respostas analisadas, alguns pontos práticos relativos à aplicação do processo de otimização devem ser enfatizados.

O primeiro objetivo da otimização (definido como Caso 1) foi maximizar a produção de bixina, o que somente pode ser atingido por meio da maximização sinérgica da quantidade de pó. Entretanto, é sabido que maximizar a produção exige o sacrifício da pureza do pó obtido (% de bixina no pó). Uma restrição de 30% de bixina no pó foi, então, imposta ao algoritmo, de modo a garantir a qualidade comercial do produto obtido por meio das condições otimizadas.

O segundo objetivo da otimização (definido como Caso 2) foi produzir um pó com o mais alto nível de pureza, maximizando a porcentagem de bixina no pó produzido. Não foram impostas restrições acerca das quantidades de pó e bixina produzidos embora se espere, por experiência prévia, um sacrifício na massa (pouco pó deve ser extraído).

Os parâmetros utilizados na otimização utilizando o algoritmo de ED foram: 50 indivíduos, 250 gerações, taxa de perturbação e probabilidade de cruzamento igual a 0,8 e estratégia para a geração de potenciais candidatos DE/ rand /1/ bin. Para os parâmetros considerados, o número de avaliações objetivas de função foi de 12550. Cada estudo de caso foi executado dez vezes a fim de obter valores médios resultantes. Um determinado número de gerações é definido para interromper o procedimento como critério de parada, neste caso, 250.

Dois novos experimentos foram conduzidos para verificar, fisicamente, o quanto a resposta experimental, nas condições otimizadas, se aproximava da estimativa do modelo e o erro experimental (desvio percentual entre as respostas) foi calculado.

### 3.6 A extração Sequencial em Leito Fixo

Com o objetivo de maximizar a recuperação da bixina a partir das sementes de urucum, duas extrações sequenciais foram realizadas, combinando as tecnologias de extração em leito de jorro e a extração sólido-líquido em leito fixo, utilizando etanol à pressão ambiente. As condições operacionais da extração com leito de jorro escolhidas foram aquelas advindas da otimização do processo. O tempo de extração foi mantido em 5 h e, após este tempo, o sistema foi desmontado e as sementes novamente armazenadas sob congelamento.

A segunda etapa da extração foi realizada na unidade experimental descrita na seção 3.3.1 e as sementes pré-processadas foram utilizadas para esta nova etapa de extração. As condições operacionais foram utilização de etanol como solvente, temperatura do banho igual a 50°C, pressão de 5 bar e tempo de extração igual a 9 h, para verificar o quanto da bixina, originalmente presente na semente, foi extraído pela combinação entre os dois processos. As respostas analisadas após a extração foram padronizadas conforme os parâmetros apresentados nas equações 3.2 – 3.4. Foram considerados como respostas, então, o rendimento global da extração  $X_0$ ; a concentração de bixina no pó,  $C_0$  e a recuperação de bixina  $R$ .



## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 Caracterização das Sementes de Urucum

##### 4.1.1 Caracterização física das sementes

Os resultados da determinação do volume, densidade aparente, diâmetro da esfera de mesmo volume da partícula e esfericidade encontram-se na Tabela 4.1. Todos os cálculos foram executados para um universo amostral de 30 sementes. Uma vez que somente as sementes do segundo lote seriam submetidas à extração mecânica, somente estas foram caracterizadas fisicamente.

Tabela 4.1. Caracterização física das sementes – Lote 02

amostra	$m_{\text{sementes}}$ (g)	$V_{\text{sementes}}$ (mL)	$V_{\text{semente}}$ (mL)	$\rho_{\text{semente}}$ (g/cm <sup>3</sup> )	$d_p$ (mm)	$\phi$
1	0,96	0,69	0,02	1,39	3,53	0,81
2	0,95	0,70	0,02	1,37	3,55	0,82
3	1,15	0,79	0,03	1,45	3,69	0,89
4	1,01	0,71	0,02	1,43	3,56	0,83
5	0,93	0,65	0,02	1,42	3,46	0,78
6	1,15	0,79	0,03	1,45	3,69	0,89
7	1,07	0,74	0,02	1,44	3,61	0,85
8	1,08	0,74	0,02	1,46	3,61	0,85
9	1,07	0,74	0,02	1,45	3,61	0,85
10	1,05	0,69	0,02	1,52	3,53	0,81

A densidade média aparente da semente foi, então, de  $1,44 \pm 0,04$  g/cm<sup>3</sup>. O diâmetro médio da esfera de mesmo volume que a partícula foi  $3,58 \pm 0,07$  mm e a esfericidade média das partículas foi de  $0,84 \pm 0,03$ . Os resultados estão de acordo com os relatados por Coelho et al. (2015), que encontraram 3,5 mm de diâmetro para a semente de urucum, densidade aparente de 1,64 g/cm<sup>3</sup> e esfericidade média de 0,82.

#### 4.1.2 Caracterização química das sementes de urucum

Os resultados de caracterização dos dois lotes de sementes estão apresentados na Tabela 4.2, em que todos os valores estão expressos em porcentagem.

Tabela 4.2. Caracterização química das sementes de urucum

Lote	Umidade	Cinzas	Proteínas	Óleo	Carboidratos
1	11,5 ± 0,2	3,82 ± 0,09	10,34 ± 0,13	4,99 ± 0,17	69,35 ± 0,25
2	8,7 ± 0,3	4,32 ± 0,12	11,34 ± 0,21	5,40 ± 0,09	70,24 ± 0,32

Os teores (em %) encontrados estão de acordo com resultados experimentais obtidos previamente na literatura, que indicam teores de umidade que variam de 9,6 a 13,3 %; teores de cinzas que variam de 2,0 a 4,8 %; teores de proteína que variam de 12,1 a 17%; teores de óleo que variam de 2,0 a 4,8 % e finalmente um conteúdo em carboidratos em torno de 70 % (SILVA et al., 1994; NOBRE et al., 2006; SILVA et al., 2008; ALBUQUERQUE; MEIRELES, 2012).

As extrações convencionais utilizando, separadamente, água e clorofórmio nos dois lotes de sementes resultaram no seguinte perfil de extração, apresentado na Tabela 4.3.

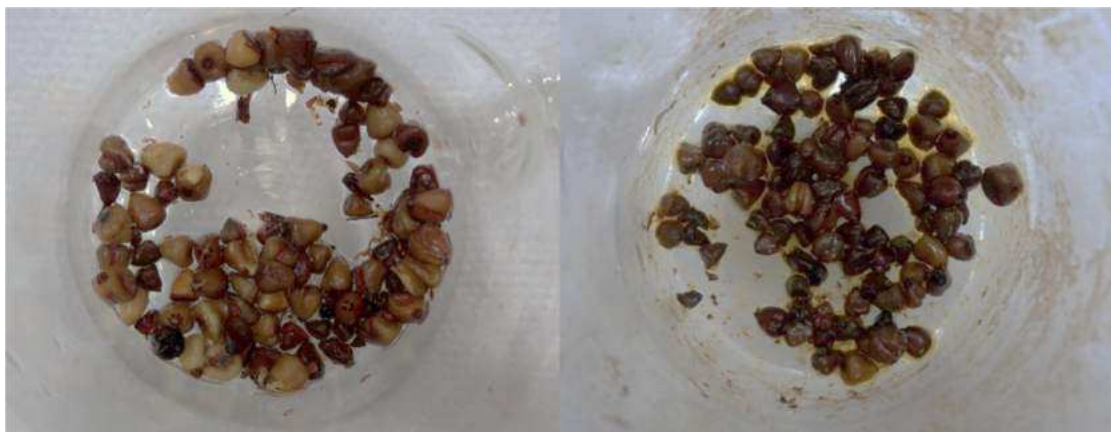
Tabela 4.3. Extração convencional nas sementes de Urucum

Lote	Solvente	$X_0$ (%)	$C_0$ (%)	$Q$ (%)	$R$ (%)
01	Água	42,72	1,18	0,49	57,65
	Clorofórmio	34,44	2,47	0,85	100
02	Água	46,32	3,13	1,45	31,94
	Clorofórmio	35,42	12,82	4,54	100

Os valores das extrações com clorofórmio foram considerados como referência para este trabalho, ou seja, como tendo conseguido atingir 100% de recuperação da bixina das sementes. Para todos os outros valores de R, respeitando o respectivo lote de sementes, foram utilizados estes valores como referência para o cálculo.

A Tabela 4.3 mostra que a água tem um excelente poder de extração global, conseguindo retirar das sementes mais conteúdo do que o clorofórmio. Semelhante comportamento foi observado por Rodrigues et al. (2014), cujos maiores rendimentos

para o parâmetro “Extração Global” foram obtidos utilizando a água como solvente. As Figuras 4.1 a e b mostram a comparação entre as sementes do segundo lote após a extração com os diferentes solventes:



(a)

(b)

Figura 4.1. Sementes de urucum após extração (a) aquosa. (b) clorofórmio.

A Figura acima mostra, visualmente, uma maior capacidade da água em retirar os compostos das sementes. Entretanto, ao observar a secagem dos frascos de penicilina, foi possível visualizar que o poder de extração da água arrasta para o extrato outros compostos além da bixina, a julgar por sua coloração menos intensa dos frascos, (Figura 4.2). Na imagem, os 3 primeiros frascos são advindos da extração aquosa (a) e os 3 subsequentes, da utilização do clorofórmio (b).



(a)

(b)

Figura 4.2. Extratos de urucum obtidos com água (a) e clorofórmio (b)

A comparação entre o terceiro frasco das duas imagens mostra que a coloração avermelhada do último está bem mais intensa. Estes dois frascos representam os



primeiros 120 min de extração com água (terceiro frasco) e clorofórmio (último frasco). É possível visualizar pela evolução das cores nos frascos que, enquanto a água extrai gradativamente, o clorofórmio é eficaz desde o início, restando pouca bixina nas sementes nas etapas subsequentes.

A análise dos carotenoides mostrou que, apesar da extração aquosa ser maior em termos de massa global, a extração com clorofórmio é mais vantajosa em termos de extração de bixina pura. A extração com água resultou em 1,18 e 3,13 % de bixina no extrato obtido para os dois lotes de sementes ao passo que o clorofórmio extraiu 2,47 e 12,82 %.

Os resultados advindos da extração com clorofórmio representam, neste estudo, o esgotamento total das sementes, sendo considerados como o máximo valor de bixina que poderia haver nas sementes. De fato, em todas as outras extrações subsequentes, valores próximos a este foram atingidos sem nunca, porém, ultrapassá-lo.

## 4.2 Extração utilizando Tecnologias Combinadas

### 4.2.1 Extração em Etapa Única

No primeiro lote de sementes cinco extrações em etapa única (U) foram conduzidas; seus tempos de duração foram distintos mediante resultados obtidos em extrações preliminares. A Tabela 4.4 mostra os resultados obtidos em cada uma das extrações.

Tabela 4.4. Resultados das extrações em etapa única (U) – Lote 1

Exp.	Solvente	P (bar)	t (min)	X <sub>0</sub> (%)	C <sub>0</sub> (%)	Q (%)	R (%)
U <sub>1</sub>	CO <sub>2</sub> supercrítico	400	300	1,71	4,98	0,09	10,59
U <sub>2</sub>	Etanol	5	540	6,14	14,37	0,84	98,82
U <sub>3</sub>	Etanol	400	540	4,63	11,17	0,52	61,18
U <sub>4</sub>	Etanol/Água	5	540	8,61	6,40	0,55	64,71
U <sub>5</sub>	Etanol/Água	400	540	6,35	5,20	0,33	38,82

Todos os percentuais de bixina no extrato (C<sub>0</sub>) obtidos foram superiores ao encontrado na extração convencional. Isto se deve ao fato de que, na extração

convencional, o experimento foi conduzido até o esgotamento da semente, sendo arrastados, além dos pigmentos, todos os outros componentes do pericarpo. Tal fato contribuiu para aumentar a massa total do extrato obtido e reduzir o percentual de bixina presente neste.

A Figura 4.3 mostra, graficamente, a comparação dos resultados de extração, em termos de rendimento (Q) de bixina, ao longo do tempo.

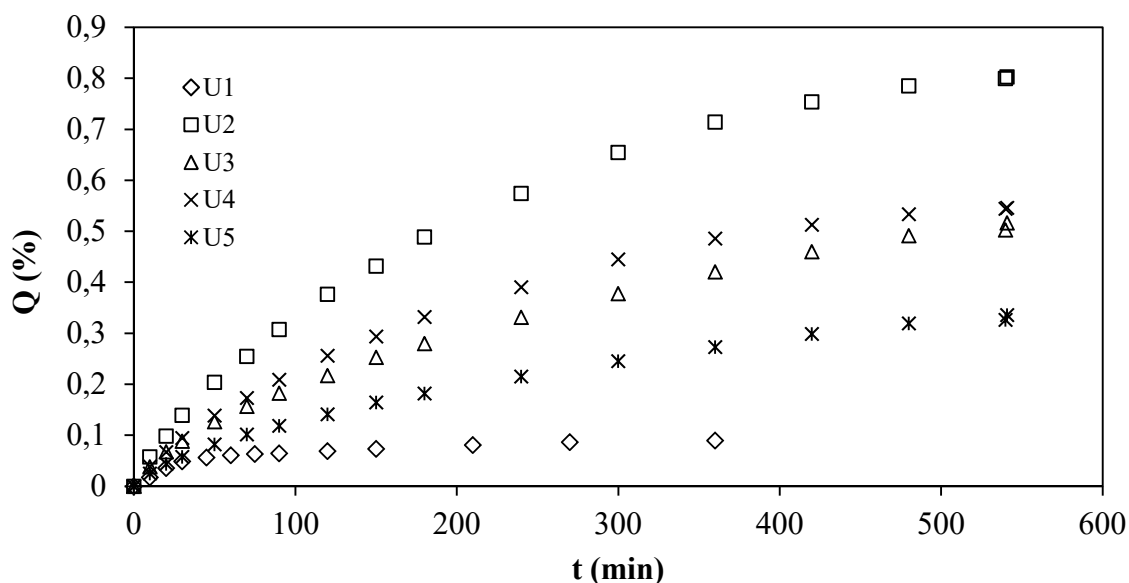


Figura 4.3. Cinéticas de extração em etapa única – Lote 1

A extração U1 mostrou ser a menos capaz de extrair os compostos a partir das sementes inteiras, conseguindo recuperar apenas 10,6 % da bixina presente originalmente nas sementes. Na primeira hora, extraiu-se o óleo do urucum, de cor vermelho intenso, seguido por uma decrescente extração de pigmentos. No trabalho experimental conduzido por Albuquerque e Meireles (2012), um valor de Q igual a 0,07 % foi encontrado utilizando-se CO<sub>2</sub> supercrítico, em condições experimentais similares. A diferença foi o tempo de extração, consideravelmente menor (20 min), o que levou a um menor rendimento de extração.

Comparando-se as extrações (U2 e U3; U4 e U5), percebe-se que o aumento da pressão causa um efeito inverso na eficiência da extração. A massa do extrato global obtido foi menor em ambos os casos, e os teores de bixina e rendimento da extração também se apresentaram menores a altas pressões.

O aumento da polaridade do solvente também não se mostrou eficaz para aumentar a eficiência na extração: apesar de a mistura com água aumentar o rendimento global, os teores de bixina foram menores tanto em massa quanto em porcentagem e recuperação. Este resultado mostra a capacidade da água em extrair outros compostos da semente, além da bixina.

Os resultados da Tabela 4.4 e da Figura 4.3 mostraram que a extração da bixina, nas condições testadas, foi mais eficiente a baixas pressões e utilizando o etanol como solvente, resultando em um valor para a recuperação de bixina (R) igual a 98%.

No segundo lote de sementes, duas extrações em etapa única (U') foram conduzidas; a escolha dos solventes baseou-se nos resultados obtidos nas extrações anteriores e o tempo de duração foi estendido a fim de aumentar o valor de recuperação de bixina. A Tabela 4.5 mostra os resultados obtidos em cada uma das extrações.

Tabela 4.5. Resultados das extrações em etapa única (U) – Lote 2

Exp.	Solvente	P (bar)	t (min)	X <sub>0</sub> (%)	C <sub>0</sub> (%)	Q (%)	R (%)
U'1	Etanol	5	660	6,93	31,10	2,16	47,58
U'2	Etanol	400	660	4,98	17,71	0,88	19,38

Os resultados mostrados na Tabela 4.5 mostram, qualitativamente, um resultado semelhante ao encontrado na comparação entre as extrações U2 e U3 (Tabela 4.4): o aumento da pressão causando um efeito inverso na eficiência da extração. Tanto a massa do extrato global obtido (X<sub>0</sub>) quanto o rendimento de bixina (Q) se apresentam menores. A Figura 4.4 mostra, graficamente, a comparação dos resultados.

Nota-se na Figura 4.4 que, ainda que o tempo do ensaio tenha sido aumentado, o valor de recuperação de bixina (R) ainda ficou aquém do valor encontrado na extração convencional, mesmo quando o etanol foi utilizado na pressão ambiente.

Os resultados da Tabela 4.5 e da Figura 4.4 mostraram que para uma maior concentração de bixina nas sementes, apesar de um valor de eficiência menor do que o esperado, baixas pressões ainda favoreceram a extração da bixina nas condições testadas.

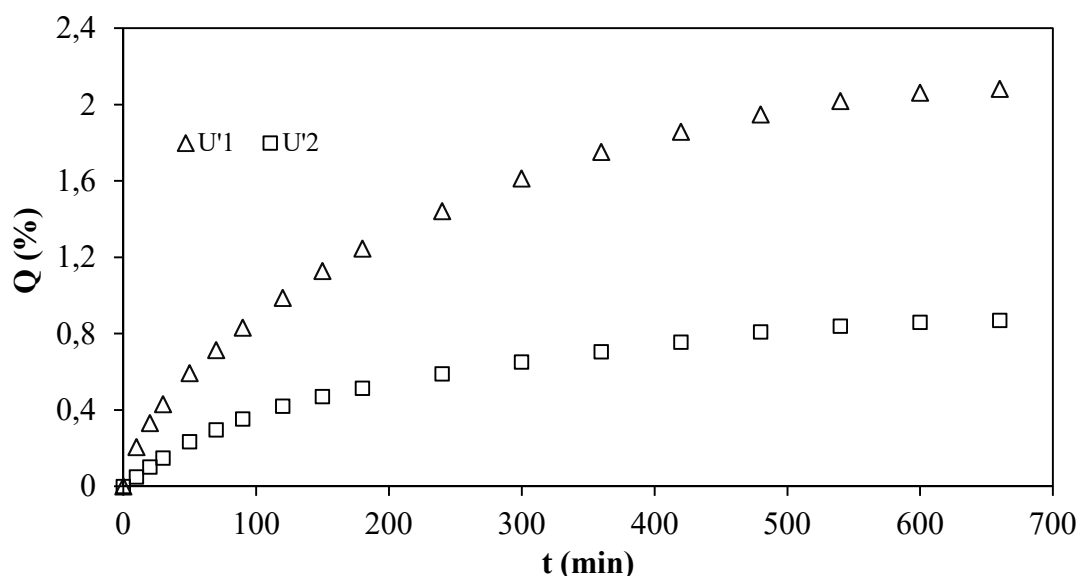


Figura 4.4. Cinéticas de extração em etapa única – Lote 2

A comparação dos resultados com outros obtidos na literatura foi positiva. Albuquerque e Meireles (2012) e Moraes et al. (2015) encontraram, para extração etanólica à pressão ambiente, um conteúdo de bixina no extrato em torno de 30%, bem próximo ao encontrado com o segundo lote de sementes (31,1%). Rodrigues et al. (2014) também obtiveram um comportamento semelhante na comparação entre a extração de bixina das sementes de urucum utilizando líquido pressurizado (etanol e água) e líquido a pressão ambiente: o etanol foi mais efetivo na extração do que a água e a elevação da pressão não favoreceu o rendimento de bixina nos extratos.

#### 4.2.2 Extração sequencial

Três extrações sequenciais (S) também foram conduzidas no primeiro lote de sementes. Os solventes foram inseridos na ordem em que são apresentados na Tabela 4.6, que mostra os resultados obtidos.

O tempo total destas extrações foi o maior dentre todos (15 horas e 30 minutos), o que foi feito para garantir um tempo suficiente de contato entre as sementes e o respectivo solvente puro, haja vista que, no período de troca dos solventes, é normal que ocorra uma mistura entre eles no extrator.

Tabela 4.6. Resultados das extrações sequenciais (S) – Lote 1

Exp.	Solvente	P (bar)	t (min)	X <sub>0</sub> (%)	C <sub>0</sub> (%)	Q (%)	R (%)
S <sub>1</sub>	CO <sub>2</sub>	400	210	1,69	4,79	0,09	72,94
	Etanol		360	3,35	12,14	0,40	
	Etanol /H <sub>2</sub> O		360	3,02	4,35	0,13	
S <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	400	210	1,71	3,28	0,06	80,00
	Etanol		360	3,29	14,34	0,47	
	Etanol/ H <sub>2</sub> O		360	2,85	5,42	0,15	
S <sub>3</sub>	CO <sub>2</sub>	400	210	1,79	4,20	0,07	78,82
	Etanol		360	3,28	13,40	0,44	
	Etanol/ H <sub>2</sub> O		360	2,88	5,58	0,16	

Apesar do tempo maior de extração e embora os resultados de recuperação tenham variado entre 70 e 80 %, nenhuma resposta destes três experimentos foi capaz de superar a recuperação de bixina obtida e massa de matéria-prima utilizando o etanol a baixa pressão em etapa única (U<sub>2</sub>).

De fato, a imagem dos extratos obtidos na extração S1 (Figura 4.5) mostra claramente que, mesmo no último frasco, ainda existe um forte indicativo da presença de corante, devido à intensa coloração ainda presente.



Figura 4.5. Extratos obtidos em extração sequencial

A Figura 4.6 mostra, graficamente, a relação entre o tempo do experimento e a bixina obtida em cada um dos pontos de amostragem. Na Figura pode-se notar que o valor de rendimento de bixina (Q) obtido na extração (R) demonstra boa repetibilidade entre as três extrações mesmo na terceira corrida (S<sub>3</sub>), realizada sem a interferência de sucessivas amostragens.

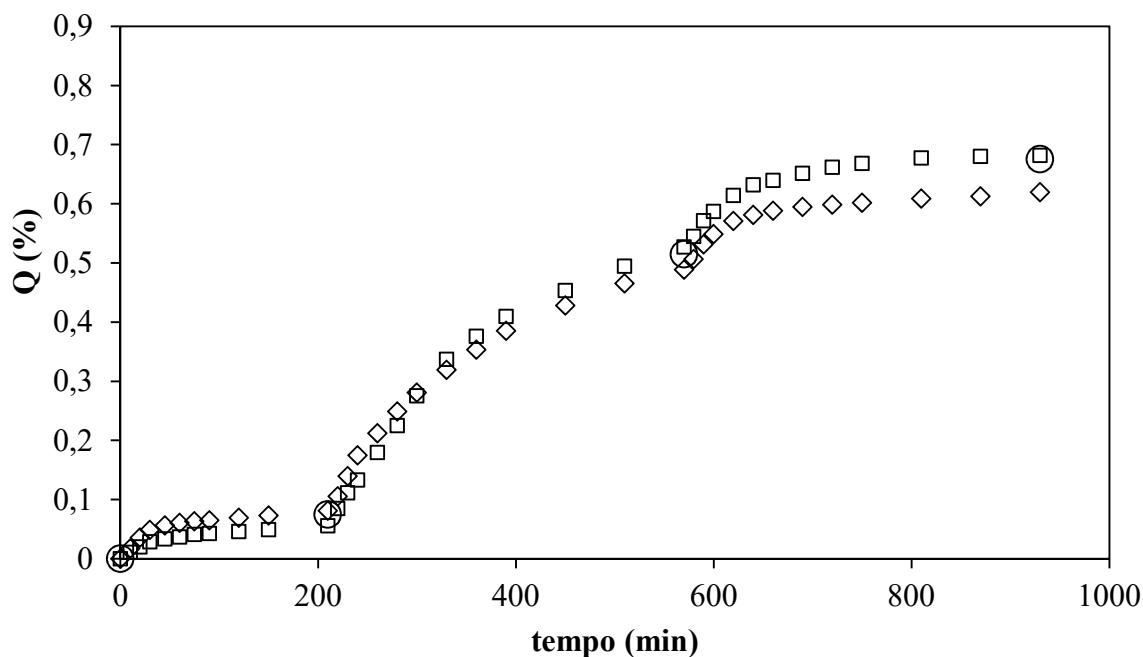


Figura 4.6. Cinéticas de extrações sequenciais – Lote 1

As maiores massas de bixina obtidas, bem como os maiores teores desta nos extratos foram obtidos com o solvente etanol puro, conforme mostraram, também, as extrações em etapa única. Os altos percentuais de bixina dos extratos etanólicos após a extração supercrítica demonstraram que uma grande parte do corante não é removida na primeira etapa da extração, indicando a viabilidade de uma extração sequencial que possa colaborar para o aumento do rendimento.

Resultados similares foram obtidos nos trabalhos de Albuquerque e Meireles (2012), Rodrigues et al. (2014) e Moraes et al. (2015), que trabalharam com sementes desengorduradas (pré-processadas com CO<sub>2</sub> supercrítico) objetivando a recuperação da bixina. Uma vez que esta metodologia de extração sequencial não demonstrou boa eficiência, mesmo com o tempo maior, sua execução não se estendeu para o segundo lote de sementes.

#### 4.2.3 Extração Sequencial Adaptada

As últimas três extrações realizadas (SA) também podem ser consideradas como extrações sequenciais. A diferença entre elas (SA) e as extrações sequenciais (S), foi a variação das condições operacionais (pressão) dentro da mesma corrida. A Tabela 4.7 mostra os resultados obtidos para o primeiro lote de sementes.

Tabela 4.7. Resultados das extrações sequenciais adaptadas (SA) – Lote 1

Exp.	Solvente	P (bar)	t (min)	X <sub>0</sub> (%)	C <sub>0</sub> (%)	Q (%)	R (%)
SA <sub>1</sub>	CO <sub>2</sub>	400	660	1,73	8,40	0,01	82,35
	Etanol	5		7,01	9,81	0,69	
SA <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	400	660	1,58	8,00	0,01	25,88
	Etanol /água	5		11,16	1,83	0,21	

Assim como encontrado no trabalho de Albuquerque e Meireles (2012), Rodrigues et al. (2014) e Moraes et al. (2015), a aplicação da extração supercrítica como pré-tratamento das sementes e posterior extração à baixa pressão com etanol incrementou a quantidade de bixina obtida em relação aos experimentos em que somente a alta pressão foi utilizada. O resultado de recuperação não foi, entretanto, superior ao obtido com a extração etanólica à baixa pressão, ainda que o tempo total do processo tenha sido maior.

A Figura 4.7 apresenta a cinética das extrações sequenciais adaptadas. É possível observar que, mais uma vez, a utilização da água misturada ao etanol (SA<sub>2</sub>) não favoreceu o processo de extração, sendo este teste descartado do segundo lote de sementes.

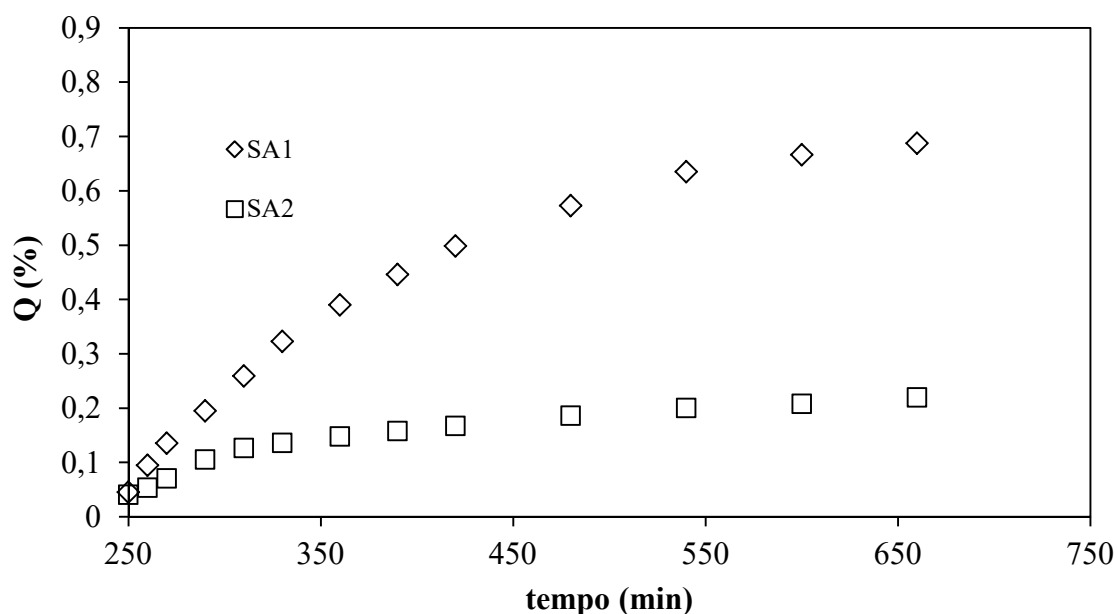


Figura 4.7. Cinéticas de extrações sequenciais adaptadas – Lote 1

A Tabela 4.8 mostra o resultado da extração sequencial adaptada, feita com as sementes mais ricas em bixina (Lote 2):

Tabela 4.8. Resultados das extrações sequenciais adaptadas (SA) – Lote 2

Exp.	Solvente	P (bar)	t (min)	X <sub>0</sub> (%)	C <sub>0</sub> (%)	Q (%)	R (%)
SA'1	CO <sub>2</sub>	400	660	1,31	3,84	0,05	27,09
	Etanol	5		6,96	16,80	1,18	
SA'2	CO <sub>2</sub>	400	660	1,31	3,84	0,05	19,38
	Etanol	400		5,40	15,45	0,83	

Por meio dos valores observados na Tabela 4.8 pode-se inferir que a manutenção da alta pressão não favoreceu a obtenção de bixina a partir das sementes, conforme mostrado, também, na Figura 4.8, ao comparar-se a performance, nas sementes pré-tratadas com CO<sub>2</sub> supercrítico, submetidas à extração com etanol a baixa (SA'1) e alta (SA'2) pressão.

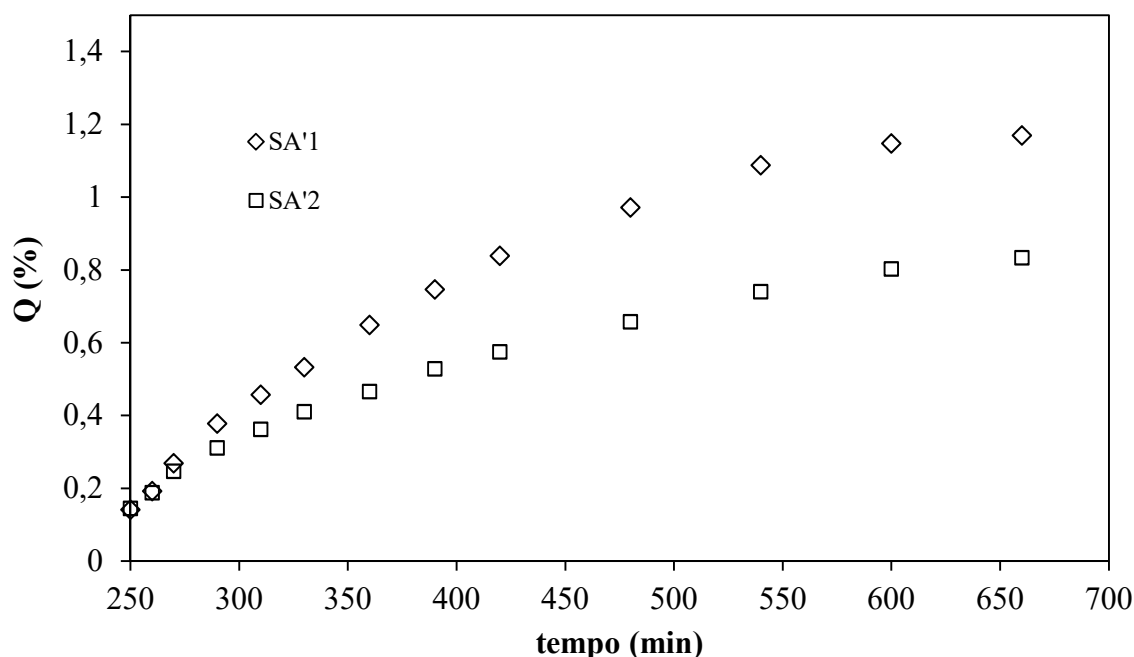


Figura 4.8. Cinéticas de extrações sequenciais adaptadas – Lote 2

Pode-se considerar então que, dentre todas as condições testadas nos dois lotes de sementes, nenhum método foi mais eficiente do que a extração com etanol a baixa pressão, em termos de volume de bixina recuperado em relação à massa de matéria-prima (98,8 %; 47,6 %).



É interessante observar que, quando são utilizadas as sementes com alto teor de bixina o padrão de comportamento da extração se mantém, diferente dos valores de recuperação. Este efeito possivelmente se deve a alguma alteração física na estrutura das sementes armazenadas há mais tempo (lote 01) que fez com que a bixina presente nas sementes, embora em menores teores devido à degradação natural, estivesse mais disponível para extração.

Em relação à porcentagem de bixina no extrato ( $C_0$ ), diversos experimentos conduzidos com etanol (a altas ou baixas pressões, com sementes pré-tratadas com  $\text{CO}_2$  supercrítico ou não) retornaram valores maiores do que 10% de bixina no extrato obtido. Entretanto, nenhum valor superou os dois obtidos com a utilização de etanol a baixas pressões (14,37 – lote 01; 31,10 – lote 02), sendo esta condição operacional, então, a mais vantajosa em termos de recuperação de bixina, dentre as condições testadas.

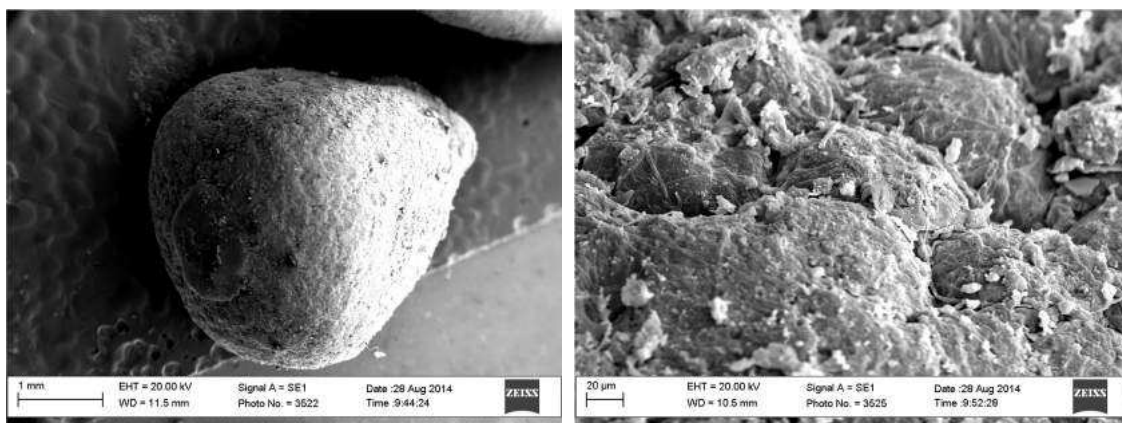
#### *4.2.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Amostras representativas dos experimentos conduzidos anteriormente foram analisadas utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras analisadas, todas do Lote 1, foram:

- Amostra I: Semente de urucum inteira, sem tratamento
- Amostra II: Semente de urucum após 2 h de extração supercrítica com  $\text{CO}_2$  supercrítico (U1)
- Amostra III: Semente de urucum pré-tratada com  $\text{CO}_2$  a 400 bar e submetida a extração etanólica a baixa pressão (SA1)
- Amostra IV: Semente de urucum após extração sequencial (S1)
- Amostra V: Semente de urucum após extração etanólica a baixa pressão (U2)
- Amostra VI: Semente de urucum após extração etanol- $\text{H}_2\text{O}$  a baixa pressão (U3)

#### *AMOSTRA I*

As Figuras 4.9 a e b representam uma semente de urucum inteira, sem a aplicação de nenhum tratamento.



(a)

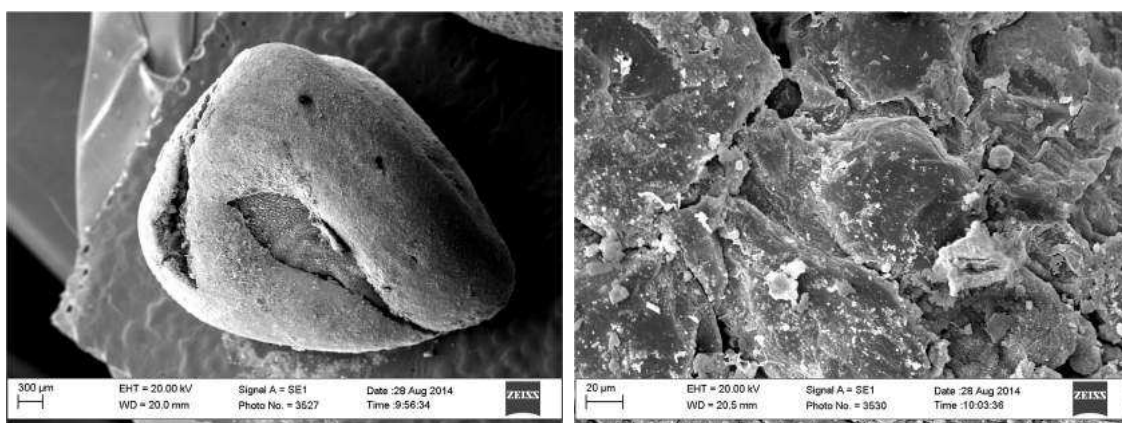
(b)

Figura 4.9. Semente de urucum intacta – aumento (a) 45 X e (b) 1000 X

Pode-se observar na primeira imagem uma semente intacta e com formato característico. No aumento de 1000 vezes, visualiza-se uma estrutura globular altamente fibrosa. Existem, também, espaços entre os glóbulos, semelhantes a poros.

### AMOSTRA II

A amostra II representa uma semente que passou por extração supercrítica durante 2 h (ensaio S1). Neste processo ocorre a extração do óleo de urucum. Em grande parte das sementes (como a apresentada na figura) é possível observar a ruptura do pericarpo e exposição do conteúdo do interior da semente.



(a)

(b)

Figura 4.10. semente desengordurada. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.

### AMOSTRA III

A amostra III representa a semente desengordurada (pós-extração supercrítica com CO<sub>2</sub>) após ter sido submetida à extração com etanol a baixa pressão. As sementes

apresentaram-se bem mais porosas do que as sementes intactas, indicando espaços outrora ocupados por material extraído.

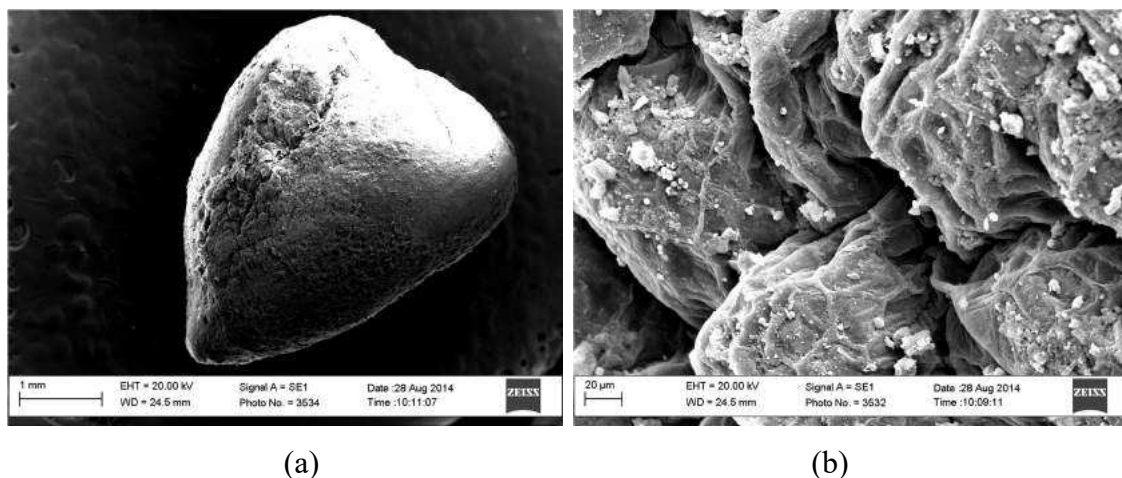


Figura 4.11. Semente de urucum após extração com CO<sub>2</sub> e etanol. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.

#### AMOSTRA IV

A amostra IV representa a semente após ter sido submetida à extração sequencial (CO<sub>2</sub>, etanol e etanol-H<sub>2</sub>O a alta pressão). Trata-se da condição mais severa imposta às sementes considerando o mais longo tempo. As sementes apresentaram-se, também, bem mais porosas do que as sementes intactas.

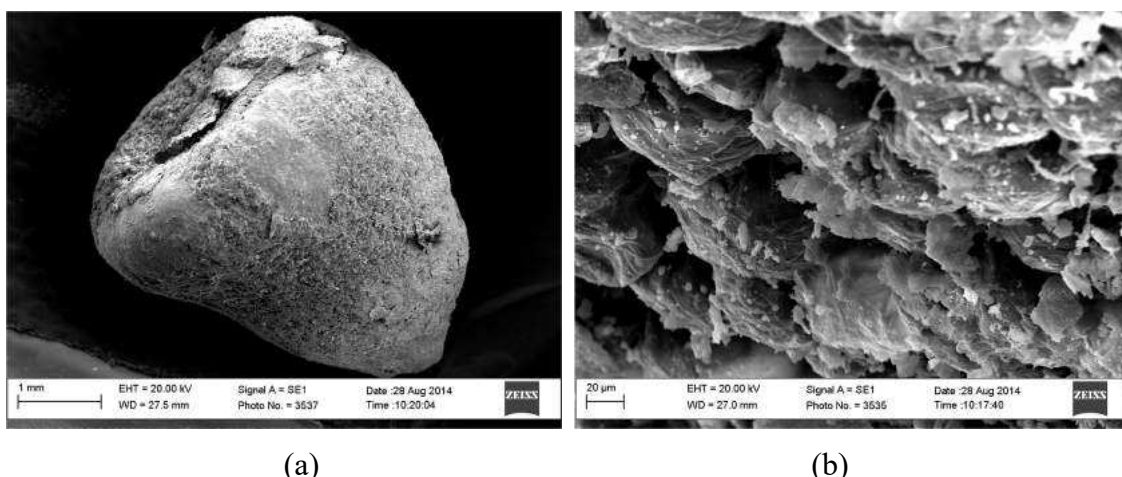
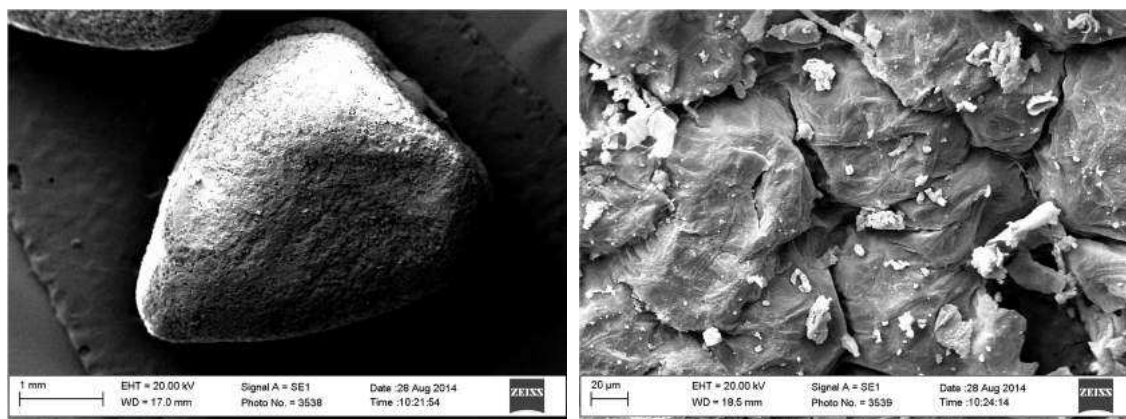


Figura 4.12. Semente de urucum após extração sequencial. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.

#### AMOSTRA V

A amostra V representa a semente após ter sido submetida à extração etanólica a baixa pressão.

Embora a estrutura globular das sementes intactas ainda tenha permanecido, a superfície encontra-se menos arredondada e fibrosa do que a original.



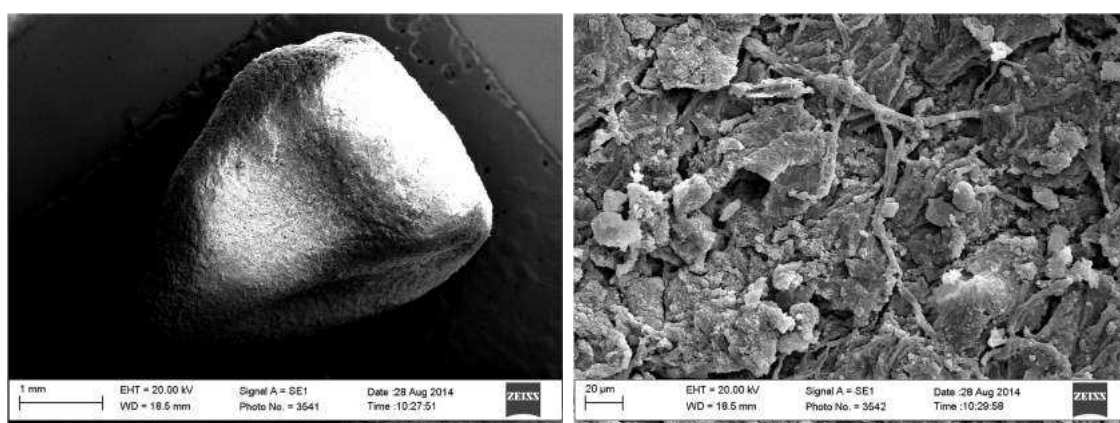
(a)

(b)

Figura 4.13. Semente de urucum após extração etanólica a baixa pressão. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.

#### *AMOSTRA VI*

A amostra VI representa a semente após ter sido submetida à extração com a mistura de etanol e  $H_2O$  a baixa pressão. As mudanças ocorridas foram as mais significativas: a estrutura globular foi perdida (houve lixiviação intensa) e a estrutura fibrosa ao redor dos glóbulos sofreu uma espécie de “inchamento”, ficando em destaque na fotografia. Este efeito pode ser devido ao longo tempo de contato entre as sementes e a mistura entre os solventes com característica mais polar.



(a)

(b)

Figura 4.14. Semente de urucum após extração etanol- $H_2O$  a baixa pressão. Aumento de (a) 45 X e (b) 1000 X.

#### 4.2.5 Caracterização do Óleo de Urucum

A extração de óleo utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico foi conduzida utilizando 32,932 g de sementes inteiras; foram obtidos 0,527 g de óleo (1,60% de rendimento total). Na extração convencional com hexano foram utilizadas 19,937 g de sementes de urucum inteiras, em 4 diferentes bateladas; 0,797 g de óleo foram obtidos (3,99% de rendimento total). Um resultado similar foi obtido experimentalmente por Gaydou e Ramanoelina (1983), cuja extração convencional das sementes utilizando hexano obteve 3,9% de rendimento.

Os resultados da caracterização em ácidos graxos das duas amostras de óleo obtidas acima são mostrados na Tabela 4.9, que relaciona apenas os ácidos graxos mais significativos.

Tabela 4.9. Caracterização em ácidos graxos de óleo de urucum

Ácidos Graxos	Concentração (%)			
	Palmítico C 16:0	Esteárico C 18:0	Oleico C 18:1	Linoleico C 18:2
Amostra 1 (CO <sub>2</sub> )	19,36	5,11	22,44	21,29
Amostra 2 (Hexano)	17,95	8,07	20,53	20,90

Resultados similares foram obtidos por Matos (1992), que estudou óleos obtidos de sementes de plantas tropicais brasileiras. Os valores encontrados no estudo para os ácidos graxos Palmítico, Esteárico, Oleico e Linoleico foram, respectivamente: 19,3; 13,0; 15,5 e 19,3 %. A composição do óleo obtido utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico ou n-hexano não mostrou diferença significativa, em termos do perfil de ácidos graxos encontrados em ambas.

O conteúdo de tocois (tocoferóis e tocotrienóis) também foi determinado nas duas amostras acima descritas e não foi encontrado tocoferol em nenhuma das amostras analisadas. Estes resultados estão de acordo com a literatura, que caracteriza o óleo das sementes de urucum como zero tocoferol (TAN, 2005).

Os resultados obtidos para tocotrienóis ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -) estão apresentados na Tabela 4.10.

Tabela 4.10. Caracterização dos tocotrienóis ( $\mu\text{g/mL}$ ) do óleo de urucum

Amostra	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	massa amostra(g)	Alfa	Beta	Gama	Delta
Amostra 1 ( $\text{CO}_2$ )	0,01034	0,00	0,00	2,1749	13,2481
Amostra 2 (Hexano)	0,01104	0,00	0,00	2,2922	13,4928

Estes resultados, em  $\mu\text{g/mL}$ , estão próximos aos encontrados por Albuquerque e Meireles (2012), em cujo trabalho os teores de gama-tocotrienol variaram entre 1,57 e 1,97  $\mu\text{g/mL}$  e os de delta-tocotrienol variaram de 11,7 a 14,6  $\mu\text{g/mL}$ .

Os resultados obtidos pela extração utilizando o hexano (extração convencional) foram quase iguais aos obtidos pela extração utilizando  $\text{CO}_2$  supercrítico. Este fato indica que o pré-tratamento das sementes utilizando fluido supercrítico pode resultar na recuperação efetiva de um componente de alto valor biológico, uma vez que o delta-tocotrienol é o mais potente isômero de vitamina E, além de ser o composto mais importante referente às suas propriedades farmacológicas (HUSSEIN; HO, 2009).

Além disso pode-se inferir que após a extração do óleo utilizando  $\text{CO}_2$  supercrítico o rendimento da extração de bixina ainda se apresenta satisfatório ( $R = 98,8\%$  utilizando etanol a baixas pressões sem nenhum tipo de tratamento e  $R = 82,3\%$  utilizando sementes desengorduradas). A combinação entre estas duas tecnologias pode, então, melhorar os resultados finais obtidos, por meio da extração de uma grande quantidade de delta-tocotrienol no pré-tratamento das sementes sem causar interferência na recuperação subsequente da bixina das sementes de urucum desengorduradas (TAHAM et al., 2015).

### 4.3 Fracionamento dos extratos

Dois experimentos foram conduzidos com o objetivo de fracionar os extratos advindos da mesma extração com  $\text{CO}_2$  supercrítico, em um gradiente de pressão. O primeiro experimento foi conduzido com as sementes inteiras e o segundo, com as sementes trituradas.

Para se determinar o diâmetro médio geométrico do pó obtido, a granulometria foi calculada com base nas Equações 3.8 e 3.9, mostrada no capítulo anterior. O ensaio

granulométrico foi realizado em triplicata para obtenção de desvio padrão. A Tabela 4.11 abaixo mostra os dados experimentais.

Tabela 4.11. Dados de granulometria do pó de urucum.

MESH	% Retida		
	Diâmetro médio (mm)	Massa Média (g)	Desvio padrão
12	1,60	6,33	0,23
24	0,83	87,9	1,52
32	0,59	25,79	1,17
48	0,38	10,85	0,58
60	0,27	8,14	0,73
100	0,19	7,87	0,52
270	0,09	4,77	0,62

É possível observar que houve distribuição relativamente uniforme entre o tamanho das partículas, haja vista a heterogeneidade do material trabalhado. As maiores frações foram recolhidas nas peneiras intermediárias. O  $d_{mg}$  foi igual, então, a 0,73 mm.

Os testes iniciais demonstraram que o fracionamento poderia ser promissor, haja vista a diferença na coloração dos extratos advindos de cada separador. A Figura 4.15 (a) mostra os extratos obtidos nos 4 separadores, em um teste inicial de extração a 300 bar com as sementes inteiras. A Figura 4.15 (b) mostra, em detalhe, a janela de safira que permitiu a visualização do processo dentro de um dos separadores.

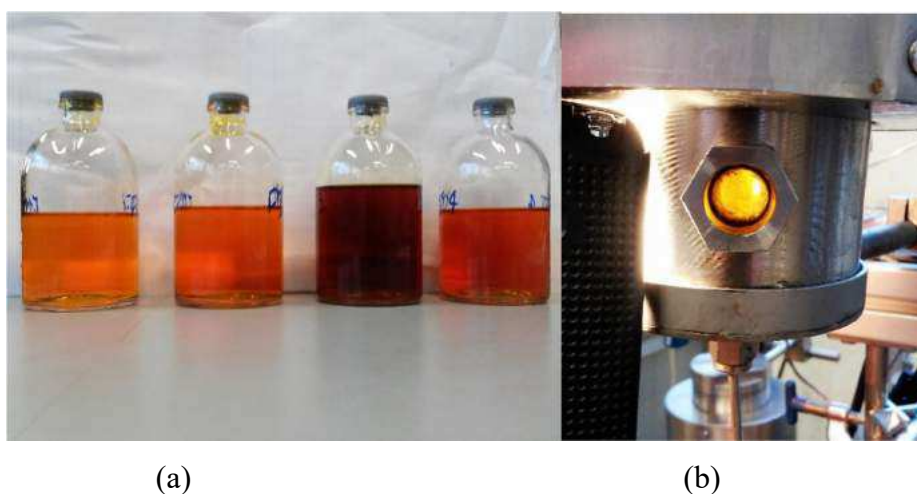


Figura 4.15. Diferentes extratos obtidos no fracionador (a) e detalhe de um dos separadores (b)

Um problema operacional não permitiu, entretanto, que a extração fosse conduzida a 400 bar, conforme as outras extrações anteriores. Assim, todas as extrações, no fracionador, foram conduzidas a 300 bar.

A Tabela 4.12 apresenta os resultados de rendimento global ( $X_0$ ) e concentração de bixina no extrato ( $C_0$ ) das duas extrações, codificadas como  $F_i$  e  $F_t$  para representar, respectivamente, o fracionamento das sementes inteiras e trituradas. Os resultados são apresentados para cada separador ( $S_1$ - $S_4$ ) que representam, respectivamente, o gradiente de pressão utilizado na extração:  $S_1 = 250$  bar;  $S_2 = 150$  bar;  $S_3 = 80$  bar e  $S_4 =$  ambiente.

Tabela 4.12. Resultados do fracionamento da extração com  $\text{CO}_2$  supercrítico

Ensaio	$X_0$ (%)				$C_0$ (%)			
	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$
$F_i$	0,02	0,07	0,84	0,72	2,32	1,99	2,24	0,36
$F_t$	0,02	0,09	1,32	0,78	2,02	1,39	0,92	0,31

O rendimento global total, em %, foi de 1,65 para as sementes inteiras e de 2,20 para as sementes trituradas. Ambos resultados estão de acordo com os obtidos anteriormente (Tabela 4.4), de 1,71 % de extração global para as sementes inteiras. O valor ligeiramente superior do rendimento global das sementes trituradas deve-se, de fato, à maior superfície de contato e exposição de todo o interior da semente à ação do solvente. De fato, a análise dos teores de bixina encontrados em cada extrato corroboram esta conclusão, uma vez que todos aqueles advindos da extração das sementes trituradas foram menores do que os seus respectivos pares advindos da extração das sementes inteiras, fato já plenamente discutido na literatura (DEGNAN et al., 1991; CHAO et al., 1991; SILVA et al., 2008).

Apesar deste fato e conforme mostrado e discutido anteriormente (Seção 4.2.1), a extração com dióxido de carbono supercrítico, por si só, não é um bom processo para extrair a bixina das sementes de urucum, haja vista que, em termos de rendimento de extração total ( $R$  %), os dois experimentos resultaram, respectivamente, em 1,14 % para a semente inteira e 0,021 % para a semente triturada. O menor valor encontrado para a extração da semente triturada já era esperado, conforme discutido anteriormente. O valor de  $Q$  encontrado na extração das sementes inteiras foi menor do que o obtido



anteriormente, conforme apresentado na Tabela 4.4. Apesar de o tempo do processo ter sido aumentado para 4 h, de modo a compensar o aumento da massa das sementes, a queda na pressão de extração para 300 bar pode ter sido significativa na obtenção deste resultado.

A análise de geranilgeraniol foi feita tanto nas sementes, antes do processo de extração, quanto nas amostras obtidas nos separadores 1 a 4, para as sementes inteiras e trituradas. Os resultados, em % mássica, estão apresentados na Tabela 4.13

Tabela 4.13. Teor de geranilgeraniol (%) nos separadores e matéria-prima

Ensaio	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	Sementes
F <sub>i</sub>	14,54	3,82	1,86	36,52	0,439
F <sub>t</sub>	1,52	0,64	1,62	34,62	

O teor de geranilgeraniol encontrado nas sementes está de acordo com o encontrado por Silva et al. (2011), que indicaram teores entre 0,3 e 0,7% do composto nas sementes *in natura*. Carvalho et al. (2009), entretanto, encontraram teores que podem chegar até a 2,3%, indicando a importância de uma seleção genética das plantas.

Os maiores teores de geranilgeraniol encontrados nos separadores foram advindos da extração das sementes inteiras, sendo este um bom indicativo de que este composto encontra-se somente ou em maior concentração na superfície da semente (arilo). O separador 4, mantido à pressão ambiente, foi o que apresentou maiores teores de geranilgeraniol nos extratos. Uma análise mássica da quantidade do composto extraído foi realizada para avaliar, com mais precisão, em qual pressão ocorre maior precipitação do geranilgeraniol (Tabela 4.14).

Tabela 4.14. Massa de geranilgeraniol (g) nos separadores e matéria-prima

Ensaio	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	Matéria-prima
F <sub>i</sub>	0,0055	0,0052	0,0290	0,4807	0,7958
F <sub>t</sub>	0,0004	0,0010	0,0399	0,5164	0,8335

Com as sementes inteiras, foram obtidos 0,5205 g de geranilgeraniol na extração, ou seja, 65,41% do total. Com as sementes trituradas foram obtidos 0,5577 g de geranilgeraniol na extração, ou seja, 66,91 % do total.

Poucos trabalhos foram desenvolvidos objetivando a extração do geranilgeraniol das sementes de urucum, o principal foco dos trabalhos existentes está na identificação do composto nas sementes e validação de métodos de análise (CRAVEIRO et al., 1989; CARVALHO et al., 2009; SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2011). A exceção foi o trabalho de Santos et. al (2012) que extraíram o geranilgeraniol das sementes de urucum por meio de soluções alcalinas, tendo obtido a máxima concentração de 35% de geranilgeraniol nos extratos, um valor condizente com os resultados encontrados na extração acima descrita neste trabalho.

Assim pode-se concluir, desta etapa, que o tratamento das sementes utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico a pressões mais amenas próximas de 100 bar é efetiva na remoção da fração lipídica das sementes, com rico conteúdo em geranilgeraniol. Mais uma vez ficou demonstrado que o pré-tratamento das sementes utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico ainda deixa nas sementes a maior parte da bixina originalmente presente sendo, portanto, uma excelente alternativa para extrair, separadamente, dois compostos com alto valor biológico e comercial.

#### **4.4 Extração Utilizando o Leito de jorro**

##### *4.4.1 As Curvas Características*

O primeiro passo dos experimentos de extração utilizando o leito de jorro foi a determinação das curvas características para as sementes de urucum. As curvas características foram construídas a partir dos resultados de queda de pressão e vazão de alimentação de ar, coletados diretamente pelo sistema de aquisição durante o decorrer da operação de extração mecânica para todas as cargas de sementes advindas do planejamento experimental (1,5; 1,7; 2,0; 2,3 e 2,5 kg).

Observações detalhadas destas curvas permitem identificar as diversas transformações sofridas pelo leito de partículas, da condição de leito estático até o aparecimento do regime de jorro estabelecido, bem como a obtenção das condições de vazões e pressões de jorro mínimo.

Em todas as curvas foi utilizado o tubo *draft* (descrito na Figura 3.8) a uma distância de 4 cm da base do leito, conforme resultados experimentais obtidos por Cunha (2009). A altura do anteparo (H<sub>a</sub>) foi mantida em 70 cm, altura máxima da parte

cilíndrica do leito, somente para evitar o arraste de partículas para o ciclone e evitando, assim, que o choque das partículas contra ela causasse alguma interferência nas curvas obtidas.

As curvas características para as cargas de semente máxima e mínima, bem como para todos os valores intermediários (níveis +1 e -1 e 0 do planejamento experimental) estão apresentadas nas Figuras 4.16 – 4.20. Assim, as Figuras 4.16 – 4.20, representam os experimentos realizados com o leito de jorro com configuração tradicional, com a presença de tubo *draft* e carregado com 1,5; 1,7; 2,0; 2,3 e 2,5 kg de sementes, respectivamente. Os valores de vazão de jorro mínimo ( $Q_{jm}$ ), em  $m^3/h$ , também estão indicados nos gráficos.

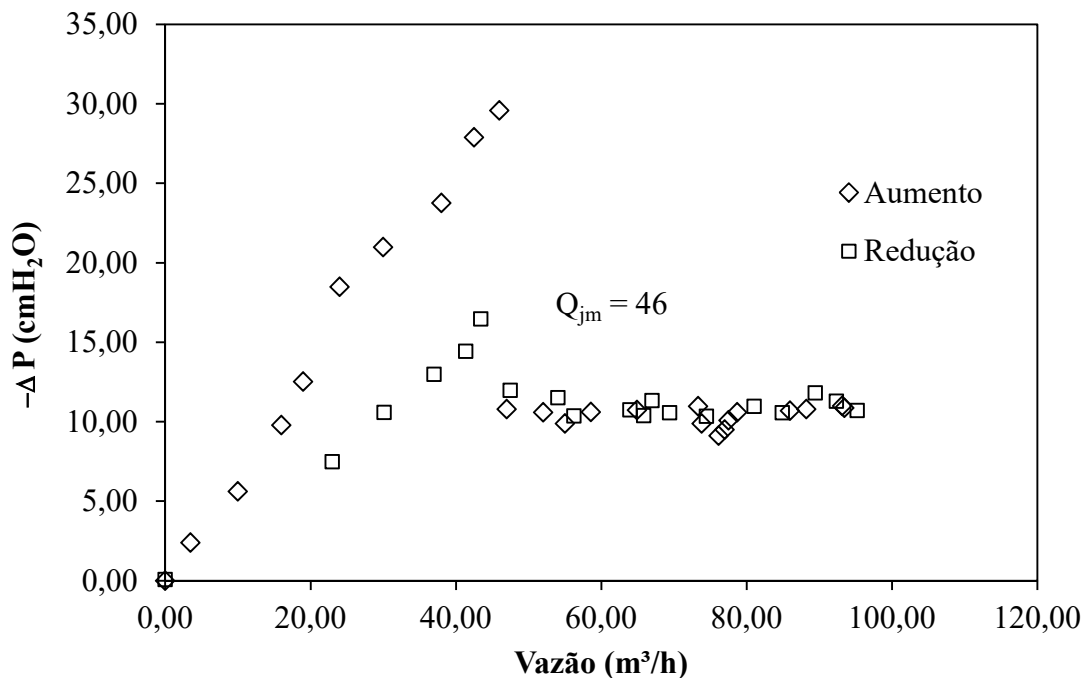


Figura 4.16. Curva característica para  $M_s = 1,5$  kg

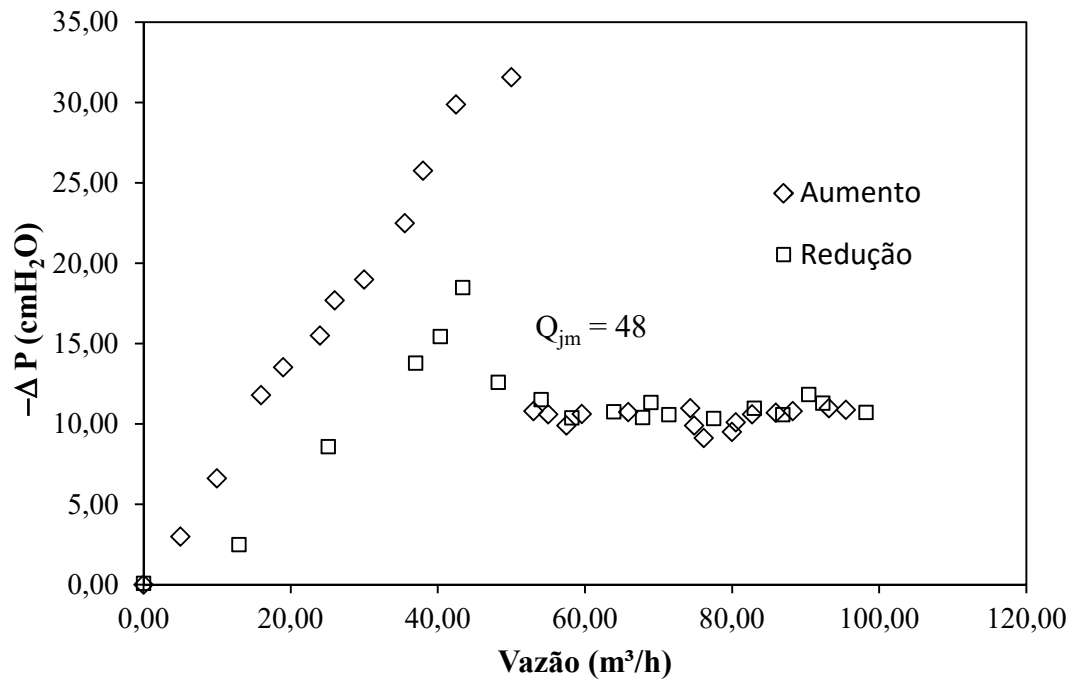


Figura 4.17. Curva característica para  $M_s = 1,7 \text{ kg}$

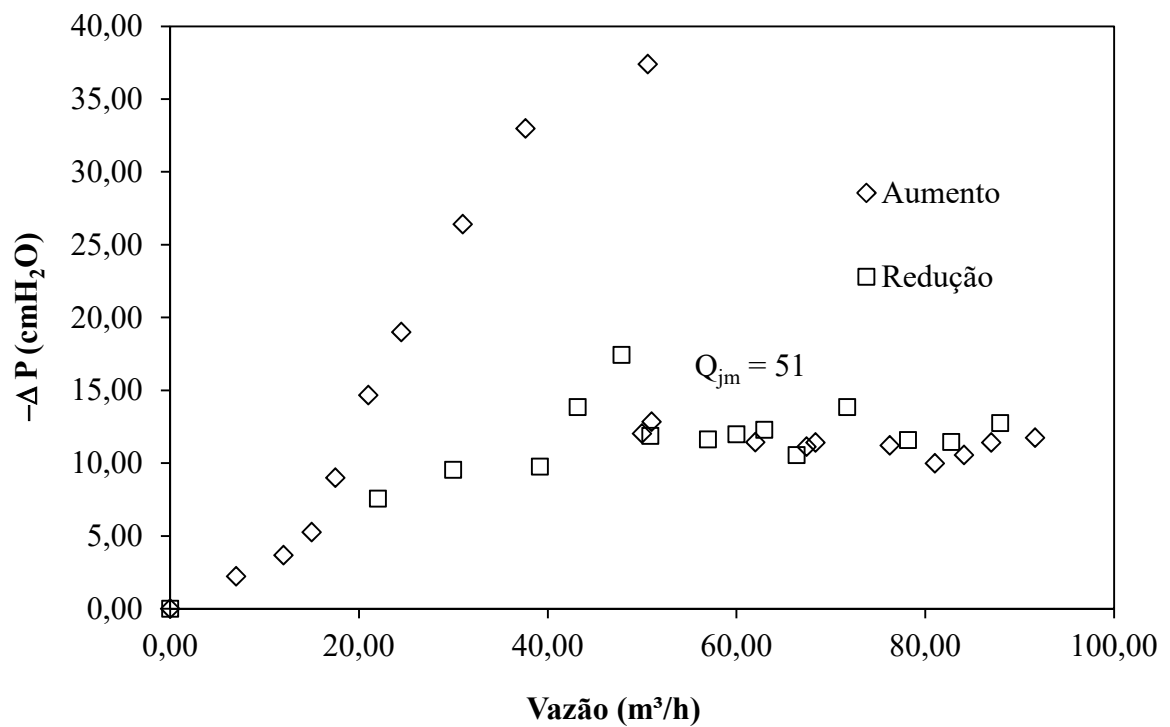


Figura 4.18. Curva característica para  $M_s = 2,0 \text{ kg}$

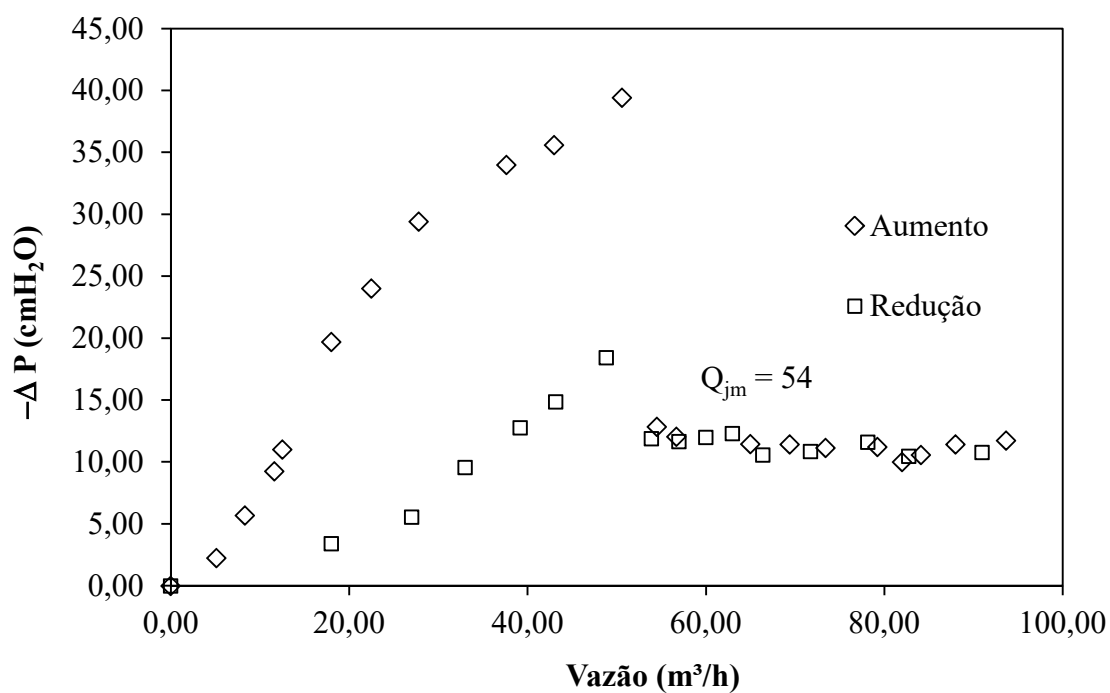


Figura 4.19. Curva característica para  $M_s = 2,3 \text{ kg}$

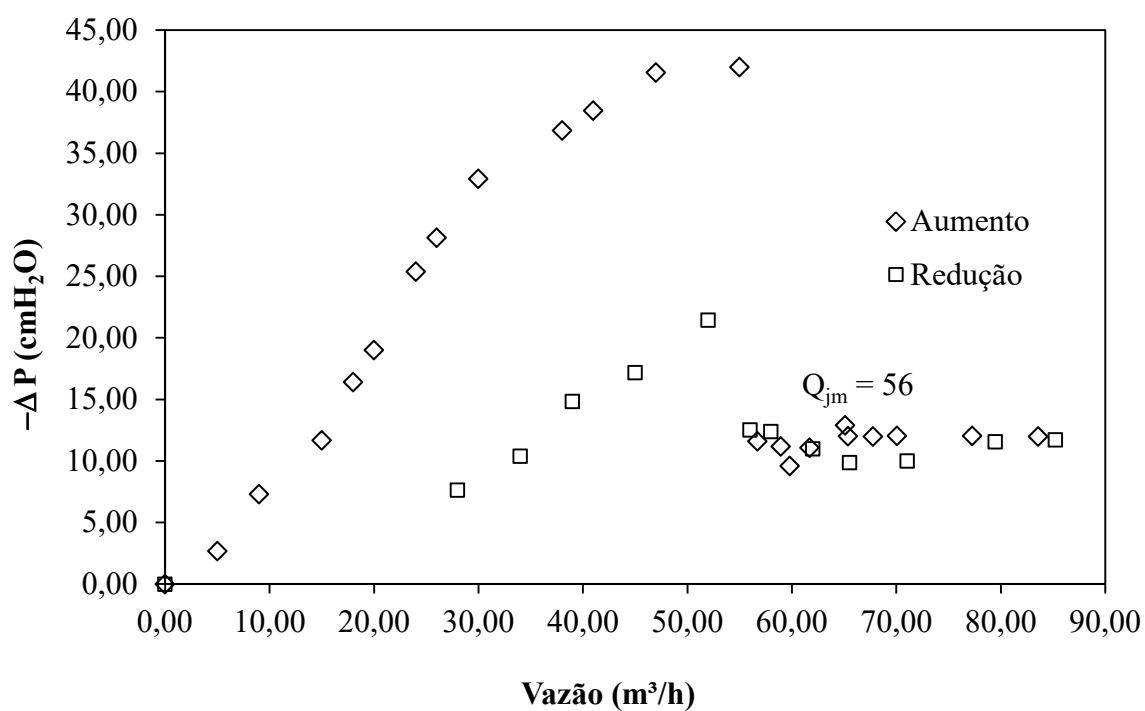


Figura 4.20. Curva característica para  $M_s = 2,5 \text{ kg}$

É possível verificar nestas figuras que, com pequenas vazões de ar, o fluido apenas percola o leito de partículas e o sistema comporta-se como um leito fixo. O aumento gradativo da vazão de ar produz uma agitação maior das partículas na base do

leito, ocasionando a formação de uma cavidade interna devido ao escoamento de ar e um aumento na altura do leito fixo. Esta cavidade aumenta gradualmente dando origem a um canal preferencial central, conhecido como jorro interno, que se estende com o aumento da vazão até o ponto de jorro incipiente, onde a perda de carga do sistema é máxima, ficando na iminência de romper a superfície do leito de partículas e estabelecer, enfim, uma fonte característica de um regime estável de jorro.

A partir deste máximo, inicia-se a fase de expansão do leito, onde ocorre um decréscimo da perda de carga, indicando que o escoamento de ar começa a vencer a força resistiva do arco de partículas, formado logo acima da entrada de ar do equipamento. Um pequeno incremento na vazão de ar alimentado propicia a formação do jorro na superfície do leito, dando origem à região de fonte e a uma forte queda na perda de carga do sistema. Desse ponto em diante, qualquer aumento na vazão de fluido não acarreta grandes mudanças na queda de pressão, conforme pode ser visto nas Figuras acima relacionadas, uma vez que a quantidade adicional de gás injetado passa quase que inteiramente pela região de jorro, que oferece menor resistência ao escoamento.

Nos processos inversos, ou seja, redução da vazão de gás (Figuras 4.16 – 4.20), é possível notar que a condição de jorro foi mantida até um valor específico de vazão, onde é observada a menor vazão de ar em que ainda se pode verificar um jorro estável, denominada vazão de jorro mínimo ( $Q_{jm}$ ). Os valores de  $Q_{jm}$  encontrados foram utilizados para determinar a vazão de ar em cada experimento da matriz do planejamento.

#### *4.3.2 Planejamento Experimental*

Os experimentos foram executados, em ordem aleatória e dias distintos, de modo a eliminar interferências do ambiente. A Tabela 4.15 apresenta os resultados experimentais, que são:  $M_p$  – massa de pó obtido (g),  $M_b$  - massa de bixina obtida (g) e concentração de bixina no pó – pureza (%).

Para melhor visualização da influência da altura do anteparo ( $H_a$ ) nas respostas, foi calculada a relação entre a máxima altura atingida pelas sementes em cada experimento (altura da fonte -  $H_f$ ) e a altura do anteparo ( $H_f/H_a$ ). A altura da fonte foi aferida por meio de observação experimental através de visor acrílico na parte

cilíndrica, sem a presença do anteparo. Altos valores da relação  $H_f/H_a$  mostram as sementes se chocando mais fortemente no anteparo, valores menores que 1 mostram que as sementes não o tocam, anulando seu efeito. Os valores da relação  $H_f/H_a$  também estão apresentados na Tabela 4.15.

Tabela 4.15. Respostas Experimentais

Variáveis Independentes					Respostas		
Exp	$M_s$ (kg)	$H_a$ (cm)	$Q/Q_{jm}$	$H_f/H_a$	$M_p$ (g)	$M_b$ (g)	% <sub>bix</sub>
1	1,7	30	1,24	1,00	21,65	8,08	37,30
2	1,7	30	1,80	2,33	66,67	19,84	29,75
3	1,7	60	1,24	0,50	20,02	10,45	52,21
4	1,7	60	1,80	1,17	53,13	17,12	32,23
5	2,3	30	1,24	1,00	28,09	11,72	41,73
6	2,3	30	1,80	2,17	89,24	27,67	31,01
7	2,3	60	1,24	0,50	27,74	13,52	48,73
8	2,3	60	1,80	1,33	97,63	23,17	23,74
9	1,5	45	1,53	1,22	25,82	11,00	42,60
10	2,5	45	1,53	1,22	74,50	24,12	32,38
11	2,0	20	1,53	2,50	36,60	12,32	33,67
12	2,0	70	1,53	0,71	40,19	11,49	28,59
13	2,0	45	1,05	0,56	13,13	7,85	59,80
14	2,0	45	2,00	1,56	96,25	28,91	30,04
15	2,0	45	1,53	1,11	41,57	14,30	34,40
16	2,0	45	1,53	1,11	40,24	13,39	33,28
17	2,0	45	1,53	1,11	39,48	14,10	35,72

Pode ser observado que os maiores valores obtidos para as massas de pó e bixina foram obtidos nos experimentos 6, 8, e 14, nos quais está presente uma alta vazão. Este fato indica que a vazão de ar tem uma influência maior sobre as respostas do que a

massa das sementes. Nos três ensaios é possível observar, também, que a relação  $H_f/H_a$  é maior do que 1, ou seja, o fato de as sementes terem alcançado a tela foi significativo.

Os menores valores para as massas de pó e bixina, por sua vez, foram obtidos nos experimentos 1, 3 e 13. Estes três testes tiveram em comum a combinação entre as menores vazões de ar aliadas à baixas cargas de semente, comportamento que está em pleno acordo com os resultados obtidos por Barrozo et al. (2013).

As mais altas porcentagens de bixina no pó foram obtidas nos experimentos 3, 7 e 13. Estes experimentos tiveram em comum baixas vazões de ar aliadas a valores da relação  $H_f/H_a$  menores do que 1, ou seja, as sementes não atingiram o anteparo. Pode-se concluir, então, que para se obter um pó com alta pureza, deve-se aplicar nas sementes baixas vazões de ar e priorizar o efeito de atrito entre elas, isolando o efeito do anteparo. Cunha et al. (2009) observou que as mais altas porcentagens de bixina no pó foram obtidas quando foram aplicadas as mais baixas vazões, enfatizando que no referido trabalho não foi utilizado nenhum tipo de anteparo.

Pode-se concluir que o aumento do efeito de choque das sementes contra o anteparo ( $H_f/H_a > 1$ ) aumenta o volume de corante extraído e o de outros compostos, reduzindo a pureza. De fato, em alguns experimentos nesta condição, foi possível observar pequenos fragmentos da casca da semente presentes no pó - especialmente nas últimas horas da extração. É importante ressaltar que estes fragmentos são extraídos após a remoção da camada de corante, o que reduz a pureza e o valor comercial do pó obtido. A Figura 4.21 mostra as sementes dentro do leito, após o experimento 14.



Figura 4.21. Sementes após extração (ensaio 14) usando leito de jorro



Na Figura 4.21 pode-se perceber (circulado em branco) o esgotamento da camada de corante das sementes após a extração. Em muitas sementes, nota-se a quase completa remoção do corante. Esta imagem foi realizada após a execução do experimento 14, em que foi utilizada a mais severa condição de vazão de ar do planejamento experimental. A esta análise pode-se acrescentar a observação das cinéticas de extração de pó e bixina dos ensaios 6, 8, 10 e 14, mostradas nas Figuras 4.22 e 4.23, que ajudam a corroborar a hipótese do quase completo esgotamento da camada de corante das sementes de urucum:

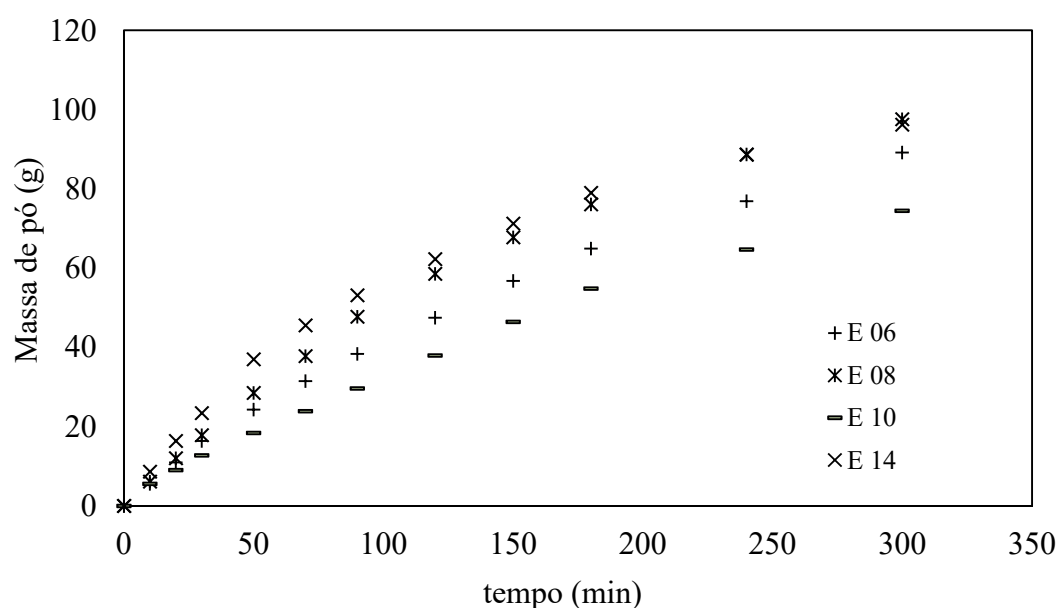


Figura 4.22. Cinética de Obtenção do pó

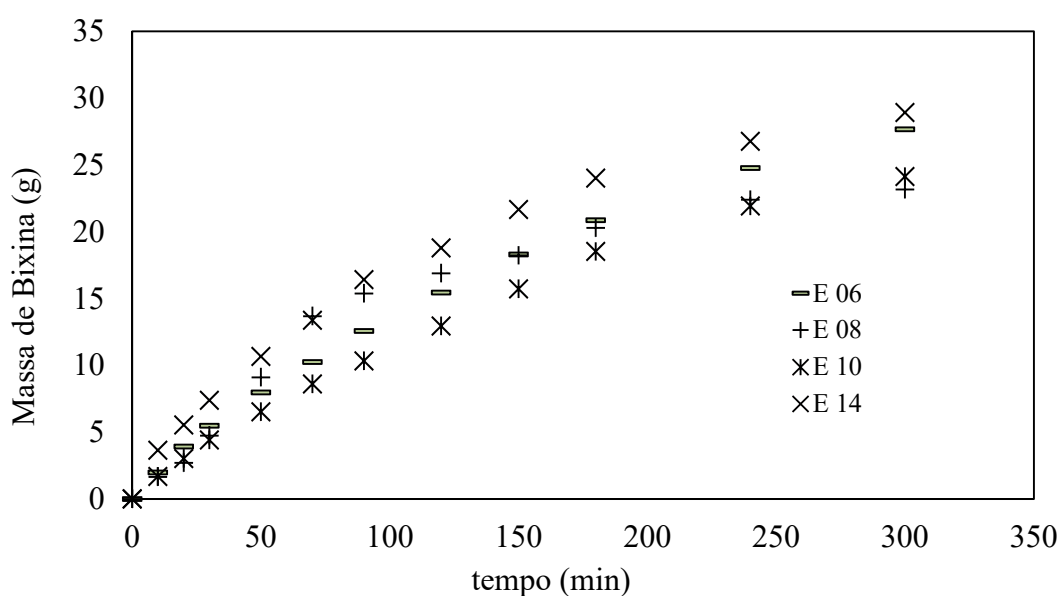


Figura 4.23. Cinética de extração da bixina

Os quatro experimentos apresentados nos gráficos (6, 8, 10 e 14) foram escolhidos por terem apresentado os maiores rendimentos de pó e bixina, de acordo com a Tabela 4.15. No gráfico pode ser observada uma extração mais acentuada no início, seguida por uma mudança na inclinação da sequência de pontos, indicando uma redução tanto no valor comercial do produto quanto na taxa de extração a partir de 300 minutos, reduzindo eficiência e elevando os custos do processo. A partir deste ponto, a melhor alternativa é partir para uma extração sequencial, variando as condições ou o método utilizado.

No presente estudo, a análise estatística foi feita por regressão múltipla, objetivando obter correlações empíricas dos dados experimentais capazes de prever as respostas selecionadas - massa de pó ( $M_p$ ), massa de bixina ( $M_b$ ) e porcentagem de bixina no pó ( $\%_{bix}$ ) – como funções das variáveis independentes na sua forma codificada. As correlações matemáticas obtidas para cada resposta estão dadas, em notação matricial, nas Equações (4.1) –  $M_p$ , (4.2) -  $M_b$  e (4.3) -  $\%_{bix}$ :

$$M_p = 39,55 + X'b_1 + X' B_1 X ; \quad (4.1)$$

$$b_1 = \begin{bmatrix} 12,3 \\ 0,0 \\ 25,0 \end{bmatrix}; X = \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \end{bmatrix}; B_1 = \begin{bmatrix} 4,1 & 1,1 & 3,6 \\ 1,1 & 0,0 & 0,0 \\ 3,6 & 0,0 & 5,5 \end{bmatrix}$$

$$M_b = 13,78 + X'b_2 + X'B_2 X ; \quad (4.2)$$

$$b_2 = \begin{bmatrix} 3,1 \\ 0,0 \\ 5,8 \end{bmatrix}; X = \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \end{bmatrix}; B_2 = \begin{bmatrix} 1,4 & 0,0 & 0,5 \\ 0,0 & -0,6 & -0,7 \\ 0,5 & -0,7 & 1,7 \end{bmatrix}$$

$$\% \text{ bix} = 35,83 + X'b_3 + X'B_3 X ; \quad (4.3)$$

$$b_3 = \begin{bmatrix} -1,9 \\ 0,0 \\ -8,1 \end{bmatrix}; X = \begin{bmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \end{bmatrix}; B_3 = \begin{bmatrix} 0,0 & -1,0 & 0,0 \\ -1,0 & -1,6 & -1,8 \\ 0,0 & -1,8 & 3,2 \end{bmatrix}$$

Nas equações (4.1)-(4.3), as variáveis  $M_s$  (g),  $H_a$  (cm) e  $Q/Q_{jm}$  (adimensional) receberam a nomenclatura de  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$ , que correspondem às respectivas variáveis codificadas adimensionais, conforme Equações (4.4)-(4.6):

$$X_1 = \frac{Ms-2000}{300} \quad (4.4)$$

$$X_2 = \frac{Ha-45}{15} \quad (4.5)$$

$$X_3 = \frac{(Q/Qjm)-,525}{0,28} \quad (4.6)$$

As equações (4.1) - (4.3) apresentam apenas os termos estatisticamente significativos, a 10% de significância; os termos não significativos foram substituídos por zero nas equações. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das análises foram 99,1% para a Eq. 4.1 –  $M_p$ , 98,4% para a Eq. 4.2 –  $M_b$  e 93,8% para a Eq. 4.3 -  $\%_{bix}$ . As análises residuais das regressões mostraram que os resíduos estavam distribuídos de forma independente (distribuição normal) com média zero e variância constante.

Os efeitos das variáveis independentes (massa das sementes, altura do anteparo e vazão de ar) nas respostas selecionadas (massa de pó, massa de bixina e % de bixina no pó) podem ser mais facilmente visualizados nas Figuras 4.24 - 4.29, que apresentam nove superfícies de resposta. Estas superfícies mostram a influência de duas variáveis do processo em uma das respostas selecionadas e, uma vez que o objetivo das construções das superfícies é a busca dos resultados ótimos, a terceira variável foi mantida no nível que apresentou melhor resultado.

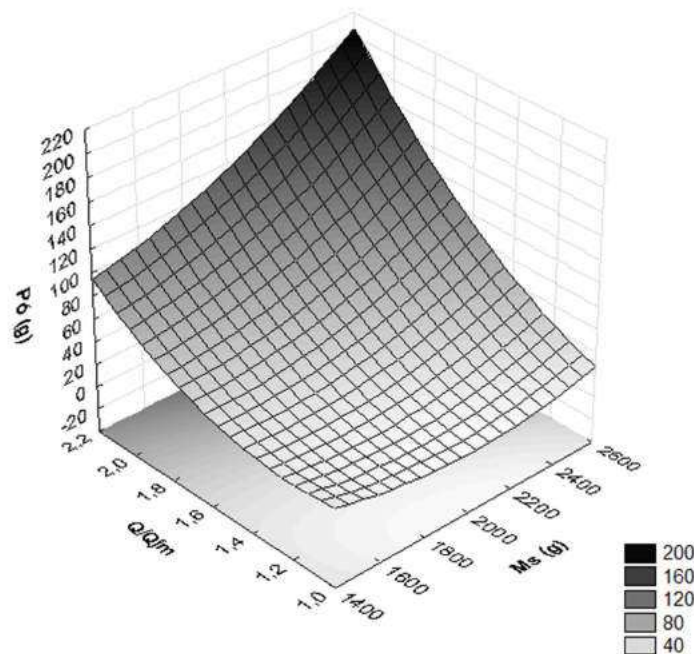


Figura 4.24. Superfície de resposta para a Massa de pó

De acordo com a equação (4.4), a carga das sementes e a vazão de ar foram as variáveis que mais fortemente influenciaram a quantidade de pó extraído ( $M_p$ ). Estes efeitos podem ser claramente visualizados na Figura 4.24, que mostra um aumento na massa de pó por meio do aumento em qualquer uma das duas variáveis apresentadas.

O ponto máximo de produção de pó encontra-se nos maiores níveis de massa de sementes e vazão de ar. Semelhantes resultados podem ser vistos no trabalho experimental de Cunha et al. (2009), cujos maiores valores para produção de pó e bixina foram encontrados combinando-se maiores cargas de sementes com altas vazões de ar. Passos et al. (1998) também concluiu que os maiores valores de produção de pó foram resultado do aumento da vazão nos ensaios.

As demais superfícies equivalentes à resposta “produção de pó” estão apresentadas nas Figuras 4.25 (a,b), que apresentam os efeitos na produção de pó das variáveis “massa das sementes” e “altura do anteparo” (a) e “vazão” e “altura do anteparo” (b).

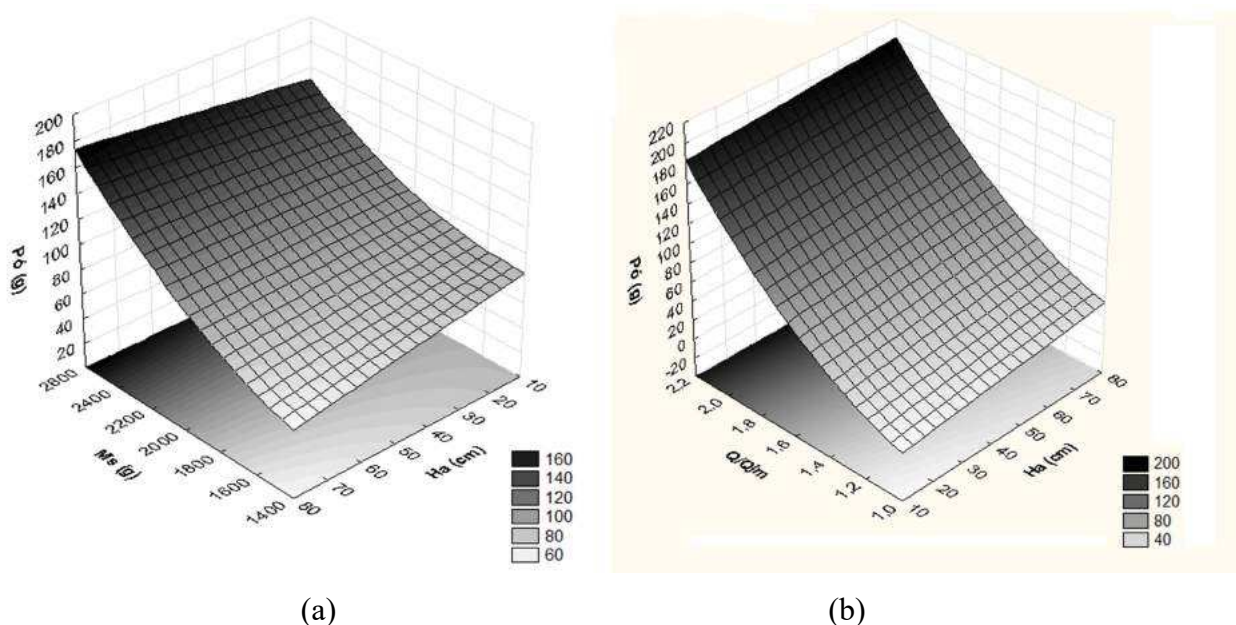


Figura 4.25. Superfícies de resposta para a produção de pó

É possível visualizar, conforme discutido anteriormente, que das variáveis analisadas, a que possui menor influência na resposta analisada foi a altura do anteparo, conforme mostra a eq. 4.1; a influência desta variável está atrelada ao efeito de interação que apresentou com as outras variáveis. Os máximos valores de produção de pó podem ser obtidos, então, aplicando altas cargas de semente e vazões de ar e alturas de anteparo variáveis.

A Figura 4.26 mostra o efeito da carga de sementes e da altura do anteparo na massa de bixina ( $M_b$ ) extraída. A influência quadrática da carga das sementes e da altura do anteparo pode ser destacada na eficiência de extração.

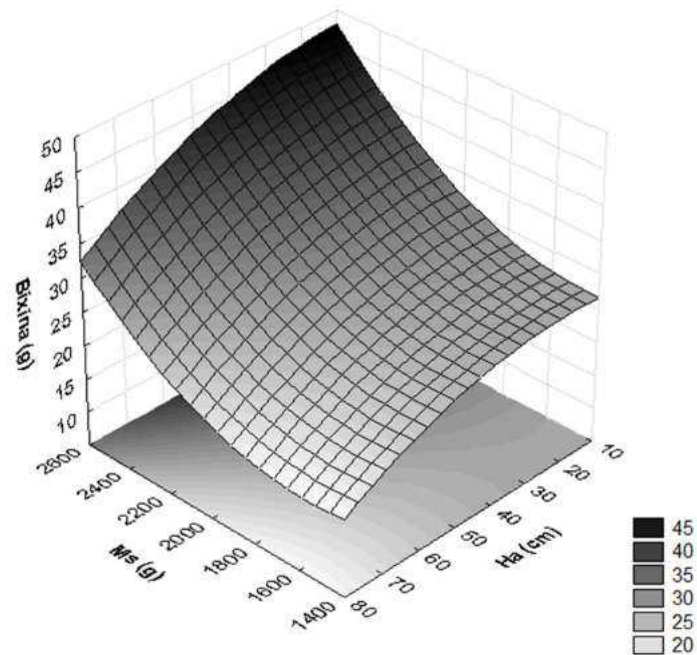


Figura 4.26. Superfície de resposta para massa de bixina

A quantificação de cada contribuição (linear e quadrática) pode ser também visualizada nos parâmetros da equação 4.2. Altos valores da carga de sementes e baixas alturas do anteparo favorecem a obtenção de bixina a partir das sementes.

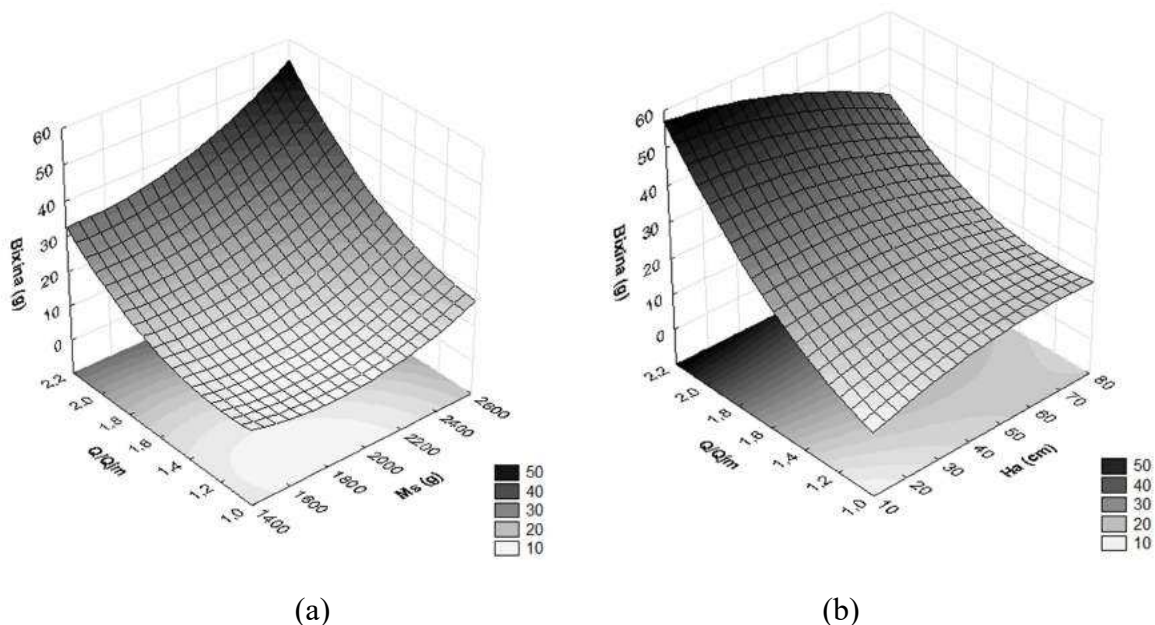


Figura 4.27 (a,b). Superfícies de resposta para a produção de bixina

As Figuras 4.27 (a,b) mostram as superfícies que apresentam os efeitos na produção de bixina das variáveis “massa das sementes” e “vazão” (a) e “vazão” e “altura do anteparo” (b). É possível confirmar, que altas vazões de ar promovem uma maior recuperação de bixina e que o efeito de fricção das sementes com a tela de aço inoxidável também teve efeito significativo na obtenção desta resposta, mostrando que, quanto mais baixo for o anteparo, maior é um impacto das sementes com o anteparo maior é a extração mecânica.

A Figura 4.28 e a equação 4.3 mostram o forte efeito de interação entre a vazão de ar ( $X_3$ ) e a altura do anteparo ( $X_2$ ), bem como a contribuição linear e quadrática destas duas variáveis na pureza dos extratos obtidos ( $\%_{bix}$ ).

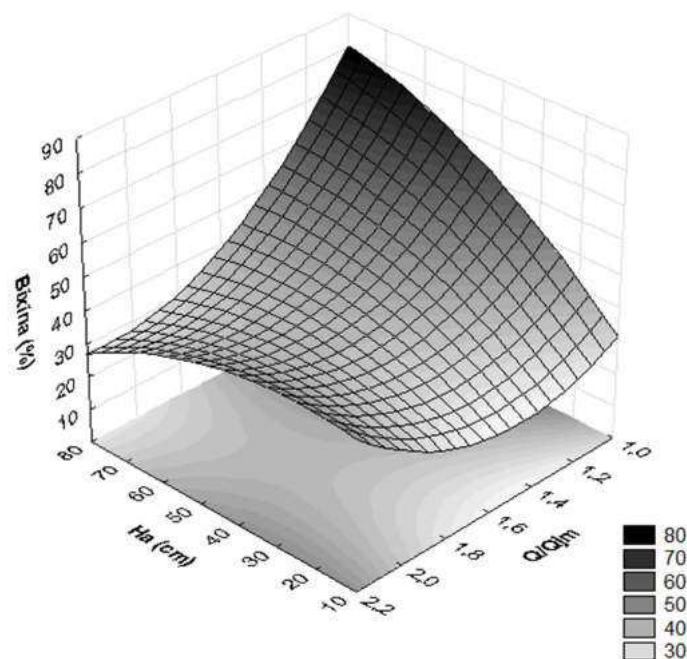


Figura 4.28. Superfície de resposta para a porcentagem de bixina no pó

A concentração de bixina nos extratos foi favorecida por baixas vazões de ar combinadas com altos valores para a altura do anteparo, ou seja, uma condição em que o atrito entre as sementes é priorizado em detrimento do seu choque contra o anteparo. Esta relação pode ser mais facilmente visualizada por meio do valor de  $H_f/H_a$  menor do que 1. Barrozo et al. (2013) também obteve maiores teores de bixina no pó extraído nas mais baixas vazões de ar, entretanto naquele trabalho a posição do anteparo não foi avaliada.



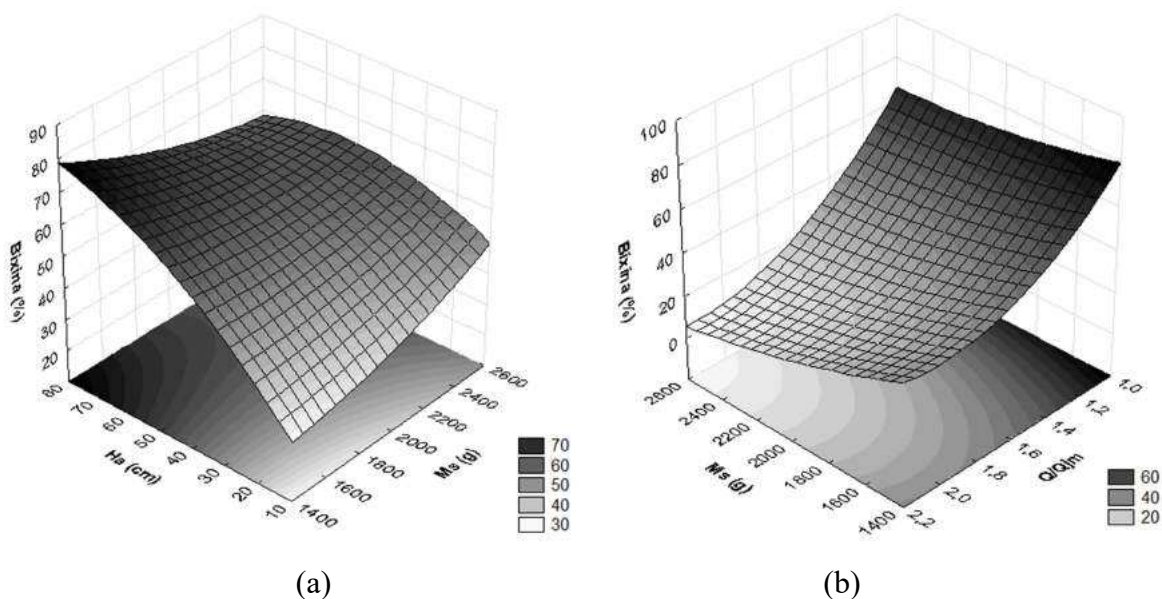


Figura 4.29 (a,b) Superfícies de resposta para pureza do pó (% de bixina)

De acordo com as Figuras 4.29 (a,b), que apresentam os efeitos na porcentagem de bixina no pó das variáveis “massa das sementes” e “altura do anteparo” (a) e “vazão” e “massa das sementes” (b), é possível observar uma forte influência das variáveis, tanto linear quanto quadrática, na resposta selecionada. Pode-se corroborar a análise anterior, que diz que a porcentagem de bixina no pó tem seus maiores valores dependentes de baixas vazões de ar e valores intermediários de altura do anteparo, condição esta que impede um choque violento das partículas contra o anteparo.

#### 4.3.3 Otimização da Extração usando Evolução Diferencial (ED)

Objetivando otimizar o processo de extração considerando as respostas analisadas, duas situações (Casos 1 e 2) foram destacadas, conforme descrito na Seção 3.4.4:

No Caso 1, o objetivo principal aqui foi maximizar a produção de bixina, que apenas pode ser atingido maximizando, também, a produção de pó, respeitando a restrição de 30% de conteúdo de bixina no pó imposta ao algoritmo, ou seja obtendo-se um produto com teor comercialmente viável.

No Caso 2, o objetivo principal foi produzir um pó com a máxima pureza, maximizando a porcentagem de bixina no pó independentemente da quantidade produzida.

Os parâmetros usados pelo algoritmo genético estão plenamente detalhados na seção 3.5.4 e no trabalho de Silva et al. (2012). A Tabela 4.16 apresenta os resultados de otimização dados pela análise do modelo matemático, com os valores reais das variáveis em suas condições otimizadas (de acordo com as equações 4.4 a 4.6):

Tabela 4.16. Níveis preditos por ED

<b>Parâmetros otimizados</b>	<b>M<sub>s</sub> (g)</b>	<b>H<sub>a</sub> (cm)</b>	<b>Q/Q<sub>jm</sub></b>
<b>Caso 1</b>	2500	42	2,0
<b>Caso 2</b>	1500	70	1,05

É interessante observar que nenhuma das condições otimizadas foi testada no planejamento experimental, razão pela qual dois novos experimentos foram conduzidos seguindo os parâmetros operacionais otimizadas, a fim de validar experimentalmente as condições dadas pelo algoritmo. Os resultados preditos e experimentais estão apresentados na Tabela 4.17.

Tabela 4.17. Resultados Preditos e Experimentais em configurações otimizadas

<b>Caso</b>	<b>Massa de pó (g)</b>			<b>Massa de bixina (g)</b>			<b>% de bixina</b>		
	Y <sub>pred</sub>	Y <sub>exp</sub>	% erro	Y <sub>pred</sub>	Y <sub>exp</sub>	% erro	Y <sub>pred</sub>	Y <sub>exp</sub>	% erro
<b>1</b>	141,8	134,9	5,1	42,4	47,5	-10,6	30,0	35,21	-14,9
<b>2</b>	17,9	20,9	-14,4	12,3	13,9	-10,9	68,8	66,21	3,9

Pode-se destacar que nos experimentos do planejamento composto central não houve resultados tão expressivos quanto nas duas condições otimizadas, tanto para a obtenção de pó e bixina quanto na pureza do extrato, conforme pode ser observado nos resultados obtidos na Tabela 4.15, que se refere a estes resultados iniciais. Os resultados para produção de pó foram, também, superiores aos obtidos por Cunha et al (2009), que obtiveram, na melhor condição, 110 g de pó a partir de 2,5 kg de sementes.

Em termos da % de bixina nos extratos, o valor de 66,21 % encontrado foi bem superior a todos os outros reportados na literatura: < 50 % (Passos et al., 1998); 15,7 % (Massarani et al, 1992); 15,8 (Barrozo et al., 2000) e 48 % (Cunha et al., 2009), que utilizaram massa das sementes igual a 2,0 kg e Q/Q<sub>jm</sub> igual a 1,1.



Estes resultados mostram que a configuração modificada do leito de jorro e as condições otimizadas neste estudo conduziu aos melhores resultados obtidos até o presente para a extração mecânica em leito de jorro. Nos dois casos foi observado que a relação  $H_f/H_a$  foi igual, respectivamente, a 1,5 e 0,42. Assim, para se obter uma grande quantidade de pó e bixina (Caso 1), com uma concentração comercialmente viável, a altura da tela deve ser menor do que a altura da fonte, sendo mantida em uma posição intermediária; não tão alta de modo que as sementes não alcancem nem tão baixa, de modo a desestabilizar o regime de jorro (TAHAM et al., 2016).

Fisicamente, foi observado que esta altura intermediária do anteparo, próxima do valor do ponto central do planejamento, fazia com que as sementes atingissem a tela no final da sua trajetória de subida, aumentando o atrito sem, contudo, se chocarem fortemente contra ela. A vazão de ar e a carga de sementes devem ser altas; a primeira para aumentar a velocidade das partículas e intensificar o atrito entre elas e a segunda, para prover uma quantidade suficiente de matéria-prima e aumentar o rendimento.

No Caso 2, em que a relação  $H_f/H_a$  foi menor do que 1, o topo da fonte ficou longe do anteparo, ou seja, as sementes não o acertaram, anulando o seu efeito. Então, para se obter um pó com elevada pureza (acima de 65 %), a altura do anteparo deve ser mais alta do que a fonte e combinada com baixas vazões de ar e cargas de semente.

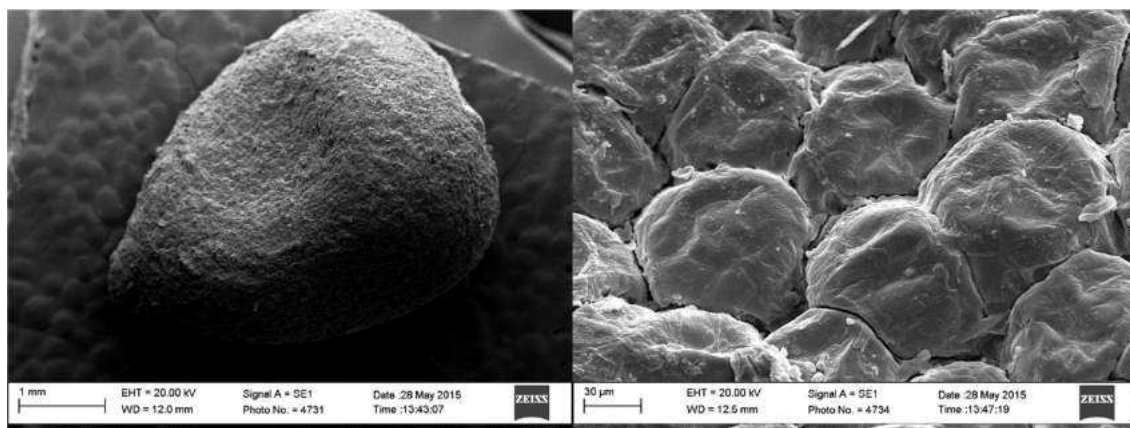
O efeito mais próximo a este foi obtido no experimento 13 (Tabela 4.14) que obteve como resultado um pó com aproximadamente 60% de bixina. Deve-se destacar, todavia, que nestas condições apenas uma pequena quantidade de pó será extraída, sendo interessante uma etapa subsequente de extração em outras condições, no próprio leito de jorro ou utilizando outro método, uma vez que as sementes ainda contêm uma considerável quantidade residual de bixina aderida às suas paredes.

Uma breve análise econômica pode ser feita para verificar a viabilidade do processo na produção de pó rico em bixina, considerando os valores de venda apresentados no capítulo 1. Nas condições otimizadas, 2,5 kg de sementes foram utilizadas e obteve-se 135 g de pó. A produção de pó custou R\$ 10,80, considerando uma potência de 5,59 KW do soprador funcionando durante 5h (27,96 KWh) e um custo de energia de R\$ 0,386 por KWh utilizado (Energia rural em Minas Gerais, considerando a bandeira vermelha – CEMIG, 2015). Se essa quantidade de sementes

fosse vendida *in natura*, seriam obtidos R\$ 10,00. O pó obtido, por sua vez, poderia ser vendido a R\$ 102,60, sem contar o valor do subproduto (semente de urucum com conteúdo residual de bixina). Descontado o valor do custo de produção, a cada 2,5 kg de sementes vendidas, o produtor deixa de ganhar R\$ 91,80, caso optasse por vender o pó. Este valor representa uma perda de R\$ 36.720,00 a cada tonelada de sementes *in natura* comercializada.

### 3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

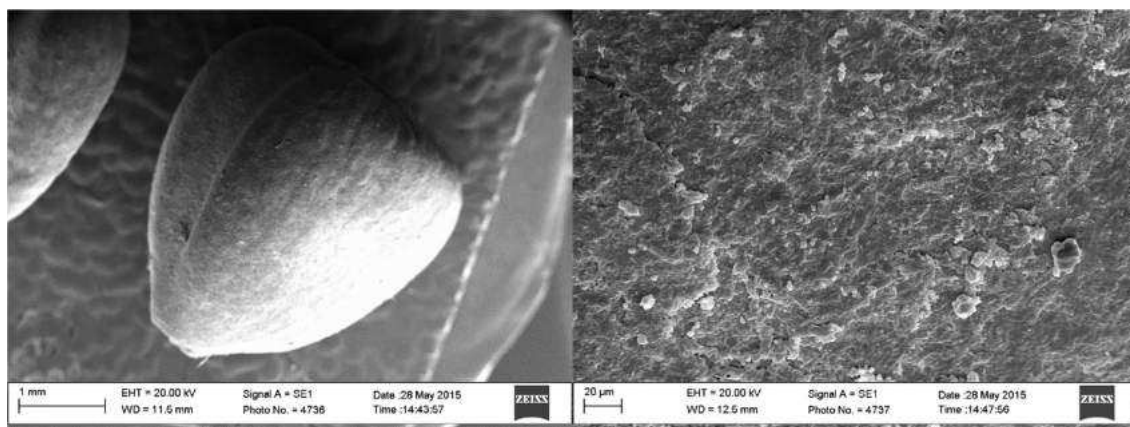
As superfícies das sementes de urucum foram analisadas utilizando a técnica de microscopia eletrônica. Três amostras de sementes foram selecionadas: sem nenhum tratamento e após extração nas 2 condições otimizadas. Aumentos de 46 e 1000 vezes foram aplicados nas imagens.



(a) (b)  
Figura 4.30. Estrutura da semente intacta. Aumento de 46x (a) e 1000x (b)

As Figuras 4.30 (a,b) mostram a superfície de uma semente sem nenhum tipo de tratamento. Nestas imagens pode ser observada uma estrutura intacta, com a presença de diversos glóbulos na superfície da semente.

As Figuras 4.31 (a,b) mostram a semente após extração nas condições otimizadas do Caso 1: Carga de sementes igual a 2500 g, altura do anteparo igual a 40 cm e  $Q/Q_{jm}$  igual a 2. A superfície das sementes apresenta-se muito mais plana do que aquela apresentada na Figura 4.30 (sem nenhum tipo de tratamento), devido ao quase completo esgotamento da camada de corante da superfície (Figura 4.31 a). A Figura 4.31 (b) mostra apenas uma pequena quantidade de pigmento ainda aderida à superfície.

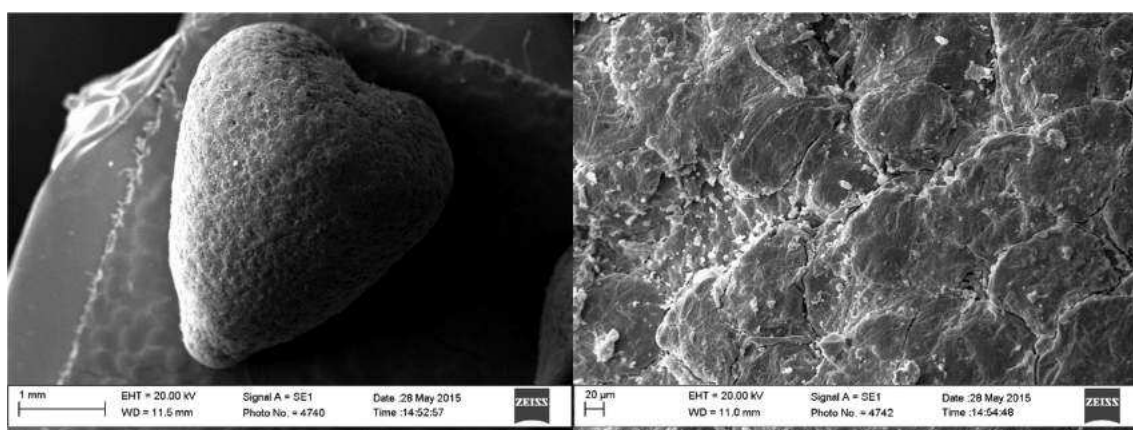


(a)

(b)

Figura 4.31. Estrutura da semente após extração caso 1. Aumento de 46x (a) e 1000x (b)

As Figuras 4.32 (a,b) mostram a semente após extração nas condições otimizadas do Caso 2: Carga de sementes 1500 g, altura do anteparo 70 cm e  $Q/Q_{jm}$  1,05.



(a)

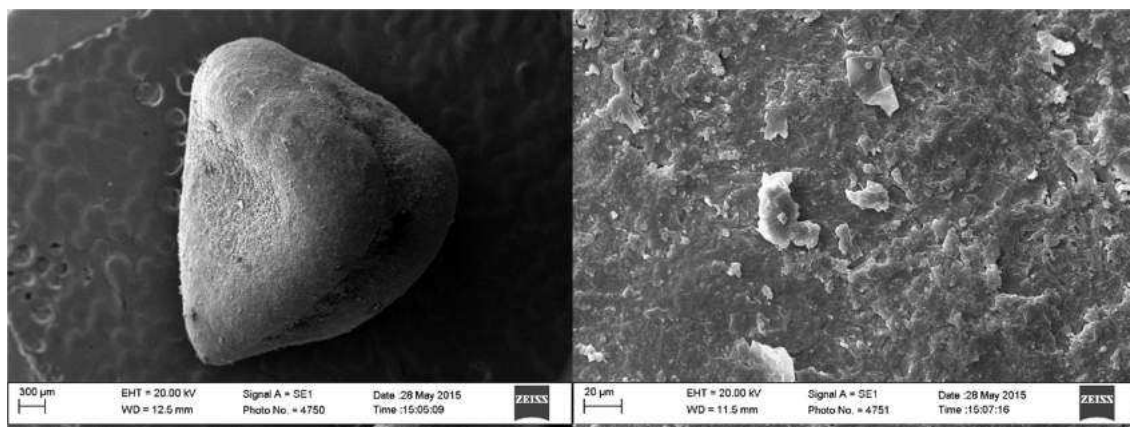
(b)

Figura 4.32. Estrutura da semente após extração caso 2. Aumento de 46x (a) e 1000x (b)

Embora a estrutura globular apresentada pelas sementes (Figura 4.32 b) tenha permanecido, é possível observar uma superfície mais murcha, quando comparada à semente intacta (Figura 4.30). Este fato indica que certa quantidade de pigmento foi removida sem, contudo, extrair todo o conteúdo presente nas sementes.

As Figuras 4.33 (a,b) mostram uma semente de urucum após a corrida 10 do planejamento experimental (Tabela 4.14): carga de sementes igual a 2500 g, altura do anteparo de 45 cm e  $Q/Q_{jm}$  igual a 1,525. É possível observar que, apesar de a extração remover grande parte da camada de corante, a combinação entre valores intermediários de vazão com altas cargas de sementes não é efetiva para causar um completo

esgotamento das sementes, sendo necessária uma extração sequencial com outro método, capaz de recuperar uma maior quantidade de bixina. A Figura 4.33b mostra claramente resquícios de pigmento aderidos à superfície das sementes.

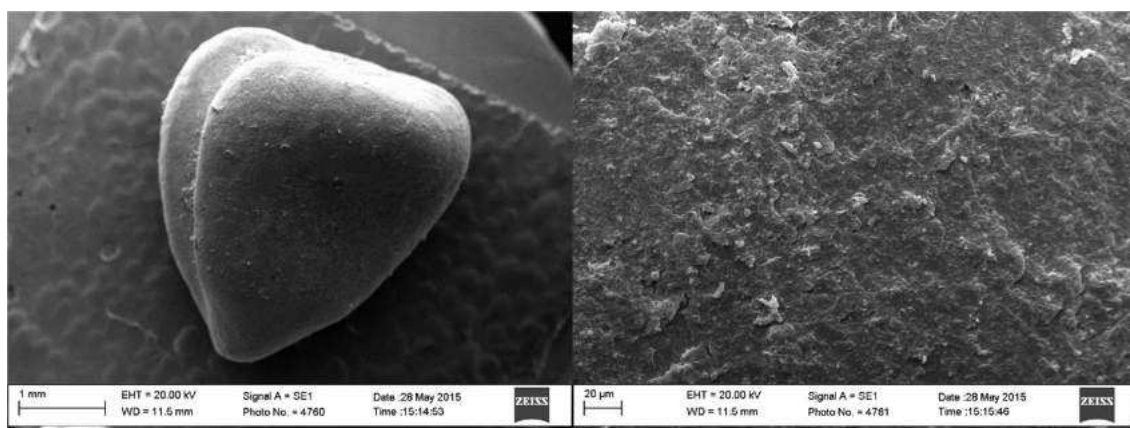


(a)

(b)

Figura 4.33. Estrutura da semente após a corrida 10. Aumento de 46x (a) e 1000x (b)

Finalmente, a Figura 4.34 (a,b) mostra uma semente de urucum após a corrida 14 do planejamento experimental: carga de sementes igual a 2000 g, altura do anteparo igual a 45 cm e  $Q/Q_{jm}$  igual a 2. Esta corrida foi escolhida por causa de sua configuração: vazão de ar alta e valores intermediários para a carga de sementes e altura do anteparo. Similar à análise feita na primeira otimização dos resultados - caso 1 (Figura 4.31), em ambas as Figuras (a) e (b) pode ser vista uma superfície das sementes quase totalmente plana, com pouco corante ainda aderido à sua parede, ratificando a forte influência da vazão de ar na obtenção de bons rendimentos na extração do corante das sementes.



(a)

(b)

Figura 4.34. Estrutura da semente após a corrida 14. Aumento de 46x (a) e 1000x (b)

#### 4.5 As extrações sequenciais em leito de jorro e etanólicas em leito fixo

Com o objetivo de maximizar a extração da bixina das sementes de urucum, duas extrações sequenciais (Seq) foram propostas, utilizando as melhores configurações das tecnologias estudadas: a extração mecânica utilizando uma nova configuração para o leito de jorro, em suas condições otimizadas, e a extração etanólica em leito fixo. A Tabela 4.18 detalha os parâmetros operacionais.

Tabela 4.18. Parâmetros operacionais das extrações sequenciais

Extrações Realizadas	Leito de Jorro			Leito Fixo (Etanol)		
	$M_s$ (g)	$H_a$ (cm)	$Q/Q_{jm}$	$M_s$ (g)	P (bar)	T (°C)
Seq 1	1500	70	1,05	15	5	50
Seq 2	2500	42	2,00			

As extrações foram conduzidas com retirada de amostras ao longo do tempo, de modo a permitir a construção das cinéticas de extração do pó e da bixina. Os valores de referência foram retirados da Tabela 4.2, sendo estes considerados como os valores máximos, equivalentes à extração com clorofórmio. A Tabela 4.19 mostra os resultados obtidos nos dois experimentos e os valores de referência.

Tabela 4.19. Resultados das extrações sequenciais

Extrações	Experimental			Referência	
	$X_0$	Q	R	$X_0$	Q
Seq 1	6,43	1,65	36,34	35,42	4,54
Seq 2	12,58	3,95	87,00		

Na Tabela 4.19 pode ser visto que, em termos de extração global, nenhum dos valores aproxima-se da extração com clorofórmio. A recuperação de bixina, por sua vez, mostrou-se próxima do esgotamento total na segunda extração sequencial, em que uma drástica condição de vazão é aplicada nas sementes na extração em leito de jorro e o etanol apenas complementa a extração, apresentando 87 % de recuperação da bixina originalmente presente nas sementes. A primeira extração mostrou-se vantajosa apenas pelo grande teor de bixina contido nos extratos advindos do leito de jorro. As Figuras 4.35 e 4.36 mostram a cinética de extração para a obtenção de pó – Rendimento Global ( $X_0$ ) e obtenção de bixina - Rendimento (Q).

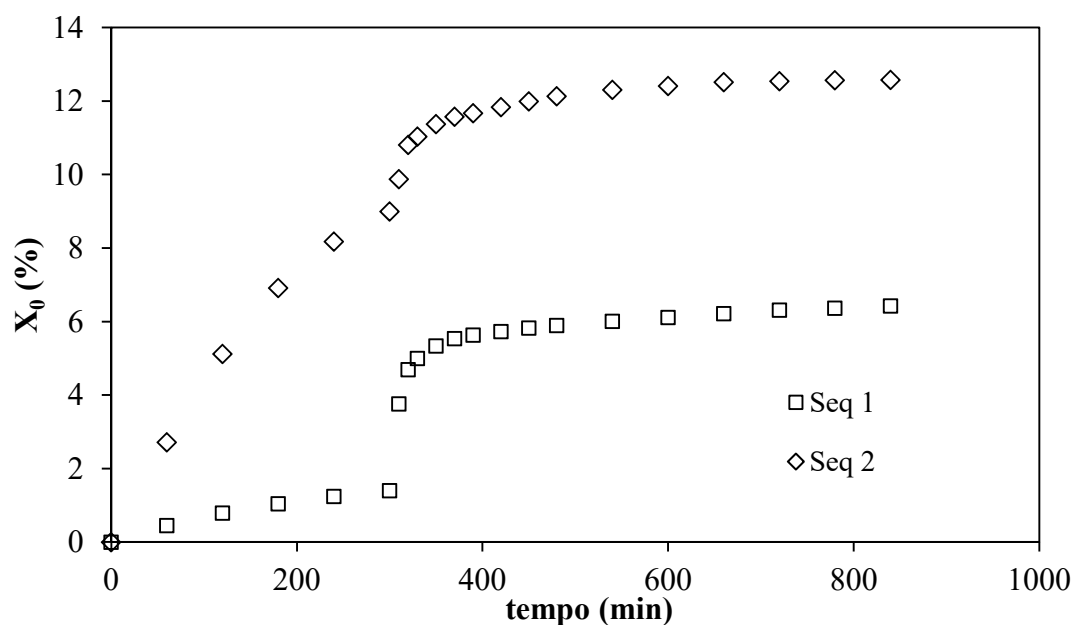


Figura 4.35 Cinética de extração de pó – extração sequencial

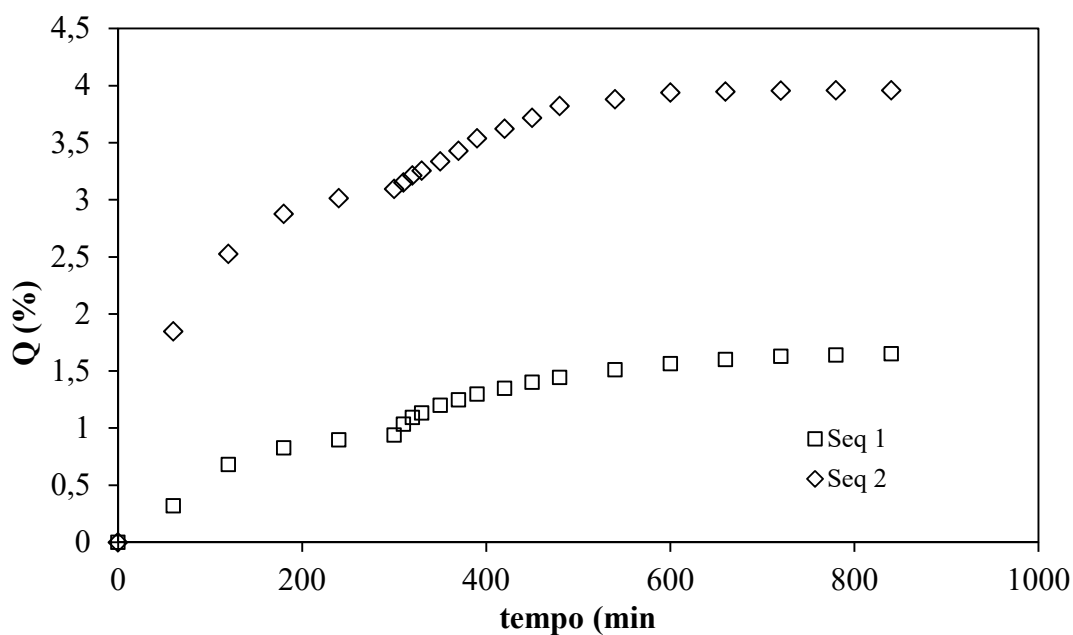


Figura 4.36. Cinética da obtenção de bixina – extração sequencial

Utilizar o etanol para extrair a bixina das sementes, após esta extração com jorro, aumenta significativamente o rendimento, não alcançando, entretanto, o esgotamento total das sementes.

As duas cinéticas seguiram o padrão de uma extração sequencial: uma extração acentuada no início, seguida por uma estabilização na taxa de extração. Esta estabilização indica uma necessidade de parar o processo para ajustar os parâmetros de

extração ou aplicar um novo método, evitando o aumento desnecessário do tempo sem melhoria na qualidade do produto final. Como a opção foi alterar completamente o processo, pode-se observar um novo início no ciclo, incrementando a taxa de extração até o surgimento de uma nova fase de estabilização, quando o processo foi interrompido.

A extração sequencial combinando leito de jorro e leito fixo mostrou-se como a mais eficiente neste trabalho, para o segundo lote de sementes (Recuperação = 87 %). Esta é uma conclusão com aplicação prática; torna-se mais vantajoso variar o método de extração do que aumentar o seu tempo, o que pode levar a uma redução significativa na pureza dos extratos, afetando diretamente o seu valor comercial.

## **CAPÍTULO 5**

### **CONCLUSÕES**

Este trabalho teve como objetivo principal a extração de compostos bioativos das sementes de urucum, com o foco na extração do corante, utilizando diversas tecnologias de baixo impacto ambiental. Foram realizadas extrações em etapa única e sequenciais, mecânicas ou com a utilização de solventes e com variações tanto no método de extração quanto nas condições de pressão, solvente utilizado e tempo.

A primeira etapa do trabalho consistiu em testar e combinar diferentes parâmetros de extração em leito fixo com o objetivo de recuperar a bixina das sementes de urucum. Foram testados os solventes CO<sub>2</sub> em condições supercríticas, etanol e uma mistura entre etanol e água. Extrações convencionais com água e clorofórmio também foram realizadas. Os resultados confirmaram que tanto o CO<sub>2</sub> supercrítico quanto a água não são solventes vantajosos em relação ao rendimento de bixina. Dentre todas as condições testadas, nenhuma foi mais efetiva do que o etanol à pressão ambiente. Esta condição foi responsável pelos maiores rendimentos de bixina dentre todas as condições testadas. Além disso, esta condição também resultou nas mais altas porcentagens de bixina nos extratos obtidos, ou seja, foi a que resultou em extratos mais puros.

Por outro lado, pôde-se constatar que o pré-tratamento das sementes, utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico resultou na extração do óleo, mantendo na semente a maior parte do conteúdo de bixina originalmente presente. O óleo foi caracterizado em termos da presença de vitamina E, tendo apresentado elevados teores de  $\delta$ -tocotrienol, um de seus constituintes. Este pré-tratamento pode ser, então, um importante meio de obtenção de vitamina E com pouca interferência, portanto, na obtenção de bixina por extração etanólica a baixa pressão em uma extração sequencial.

A segunda etapa do trabalho consistiu em fracionar os extratos obtidos por meio de extração utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico. O fracionamento foi realizado na mesma temperatura outrora utilizada, porém com um gradiente de pressão. O principal objetivo foi avaliar em qual (ou quais) pressões havia a maior concentração de dois compostos de interesse naturalmente presentes nas sementes de urucum: a bixina e o



geranilgeraniol. Nesta etapa do trabalho, foi comparada a diferença nos resultados para as sementes inteiras e trituradas. Os resultados mostraram que a redução da pressão para 300 bar interferiu na quantidade de bixina extraída, que foi menor do que quando extraída a 400 bar.

O processo de moagem das sementes também se mostrou prejudicial ao processo de obtenção da bixina das sementes, uma vez que seus rendimentos foram menores do que aqueles obtidos com as sementes inteiras. Os maiores teores de bixina foram encontrados nos extratos obtidos em pressões mais elevadas, na pressão ambiente houve pouca precipitação do composto. O teor de bixina extraído, entretanto, foi baixo, se comparado a outros métodos de extração, conforme também verificado na primeira parte deste trabalho.

O teor de geranilgeraniol, por sua vez, foi maior nos extratos advindos do separador à pressão ambiente, demonstrando a solubilidade do composto em diversas pressões até sua precipitação. A extração supercrítica utilizando CO<sub>2</sub> foi capaz de recuperar mais que 60% do geranilgeraniol presente nas sementes, nas duas condições testadas. Ficou demonstrado, assim, que o pré-tratamento das sementes utilizando esta tecnologia torna-se duplamente vantajoso para a obtenção de compostos bioativos, com pouca interferência na obtenção do corante das sementes, em subsequente extração sequencial.

A terceira etapa do trabalho consistiu em utilizar uma tecnologia clássica, a extração mecânica utilizando o leito de jorro, no processamento de maiores quantidades de matéria-prima, no caso, sementes inteiras de urucum. O principal objetivo foi estudar, por meio de planejamento experimental, a influência de três variáveis de processo: a carga de sementes no leito, a altura de um anteparo metálico no interior do leito e a vazão de ar em três respostas selecionadas: a massa de pó extraída, a massa de bixina extraída e a % de bixina no pó, que representa a pureza dos extratos. Equações empíricas foram propostas para quantificar os efeitos de cada variável isoladamente e das interações entre elas nas respostas estudadas. Em total acordo com trabalhos experimentais anteriores, a vazão de ar foi a variável que mais fortemente influenciou as respostas estudadas. Um estudo de otimização foi conduzido utilizando um algoritmo de evolução diferencial (DE), objetivando encontrar as condições que levassem aos mais altos rendimentos de pó e bixina (Caso 1) e às maiores purezas no extrato obtido (Caso

2). As duas condições otimizadas, geradas por meio do algoritmo genético, não estavam previstas no planejamento experimental e seus resultados preditos para as três respostas foram superiores a qualquer ensaio experimental realizado. A condução de dois novos experimentos nas condições otimizadas permitiu a comparação entre as respostas experimentais e preditas, tendo apresentado desvios relativamente baixos.

O estudo experimental mostrou que o leito de jorro é uma técnica de simples execução e que pode ser aplicada no processamento das sementes tanto em propriedades rurais quanto em cooperativas agrícolas, de modo a obter pó de urucum com teores de bixina variáveis, porém sempre comercialmente atrativos (entre 30 e 65%) e economicamente mais vantajosos. Além disso, as sementes pré-processadas mostraram-se potenciais matérias-primas para extração sequencial, além de apresentarem, também, valor agregado como subproduto.

A última parte do trabalho experimental propôs a combinação de duas tecnologias estudadas, o leito de jorro e a extração etanólica em leito fixo com o objetivo de maximizar o rendimento da extração de bixina e aproximá-lo ao máximo do rendimento obtido com a extração convencional usando clorofórmio. As condições otimizadas advindas do estudo com leito de jorro foram utilizadas para o pré-processamento das sementes e a extração sequencial foi conduzida no leito fixo, utilizando como solvente o etanol à pressão ambiente. O rendimento de bixina obtido na extração sequencial que utilizou as configurações da primeira otimização foi o que mais se aproximou do resultado obtido na extração convencional, dentre todas as condições testadas. Este fato indica que as extrações sequenciais podem ser uma boa alternativa de processamento, permitindo o máximo aproveitamento do corante presente nas sementes em comparação com as tecnologias estudadas isoladamente.



## SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

As sugestões para trabalhos futuros, considerando o presente estudo, são:

- Investigar a influência da variação do solvente (etanol e água) na extração em leito fixo das sementes de urucum para obtenção de  $\delta$ -tocotrienol e geranilgeraniol.
- Investigar a influência da pressão e temperatura na obtenção dos compostos acima citados por meio da extração supercrítica: refinar o fracionamento dos extratos de modo a determinar as condições experimentais ótimas;
- Determinar os coeficientes convectivos de transferência de massa para as extrações realizadas;
- Estudar a influência da variação da geometria de telas no interior do leito de jorro;
- Estudar a extração de tocotrienóis e geranilgeraniol utilizando o leito de jorro;
- Estudar a estabilidade da bixina frente à contínua exposição ao ar provocada pelo tempo de processamento das sementes de urucum no leito de jorro.



## REFERÊNCIAS

- AGNER, A. R.; BARBISAN, L. F.; SCOLASTICI, C.; SALVADORI, D. M. F. Absence of carcinogenic and anticarcinogenic effects of annatto in the rat liver medium-term assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1687-1693, 2004.
- AGUADO, R.; OLAZAR, M.; SAN JOSÉ, M. J.; AGUIRRE, G.; BILBAO, J. Pyrolysis of sawdust in a conical spouted bed reactor. Yields and product composition. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 39, n. 6, p. 1925-1933, 2000.
- ALBUQUERQUE, C. L.; MEIRELES M. A. A. Defatting of annatto seeds using supercritical carbon dioxide as a pretreatment for the production of bixin: Experimental, modeling and economic evaluation of the process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 66, p. 86–95, 2012.
- ALMEIDA, A. R. F.; FREIRE, F. B.; FREIRE, J. T. Transient Analysis of Pasty Material Drying in a Spouted Bed of Inert Particles. **Drying Technology**, v. 28, p. 330-340, 2010.
- ALMEIDA, C.; ROCHA, S. C. S. Fluidodinâmica de sementes de brócolis em leito fluidizado e leito de jorro. **Scientia Agricola**, v.59, n. 4, p. 645-652, 2002.
- ANDERSON, S. G., NAIR, M. G., CHANDRA, A., MORRISON, E. Supercritical fluid carbon dioxide extraction of annatto seeds and quantification of trans-Bixin by high pressure liquid chromatography, **Phytochemical Analysis**, v. 8, p. 247–249, 1997.
- American Oil Chemists' Society (AOCS), **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**, 5<sup>a</sup> ed., AOCS Press, Champaign, USA, 2004.
- ASAE Standards. **Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Materials by Sieving**. ASAE, S319.3, 547 p., 1997.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). **Official Methods of Analysis**. 16<sup>a</sup> ed., Washington, 1997.
- BABU, B. V.; JEHAN, M. Differential evolution for multi-objective optimization. In Evolutionary Computation, CEC'03 – **Proceedings**.. The 2003 Congress on, vol. 4, p. 2696-2703, 2003.
- BABU, B. V.; SASTRY, K. K. N. Estimation of heat transfer parameters in a trickle-bed reactor using differential evolution and orthogonal collocation. **Computers & Chemical Engineering**, v. 23, n. 3, p. 327-339, 1999.

BARBOSA FILHO, J. M. *Bixa orellana*: retrospectiva de usos populares, atividades biológicas, fitoquímicas e emprego na fitocosmética no continente americano. In: Simpósio Brasileiro do urucum. João Pessoa – PB. **Anais...** EMEPA, 2006.

BARROZO, M. A. S.; ATAIDE, C. H.; TAVARES, L. E.; DIAS, A. R. C.; PASSOS, M. L. A. Bixin Powder Production in a Spouted Bed. **Recent Progress en Genie des Procedes**, v. 14, p. 467-474, 2000.

BARROZO, M. A. S.; SANTOS, K. G.; CUNHA, F. G. Mechanical Extraction of natural dye from *Bixa orellana* seeds in spouted bed. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 279-282, 2013.

BERNOCCO, D., BOSIO, B., & ARATO, E. Feasibility study of a spouted bed gasification plant. **Chemical engineering research and design**, v. 91, n.5, p. 843-855 2013.

BORTOLOTTI, C. T.; SANTOS, K. G.; FRANCISQUETTI, M. C. C.; DUARTE, C. R.; BARROZO, M. A. S. Hydrodynamic study of a mixture of west Indian cherry residue and soybean grains in a spouted bed. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 91, p. 1871-1880, 2013.

BRASIL. Resolução nº 44 – CNNPA, de 1977. Estabelece as condições gerais de elaboração, classificação, apresentação, designação, composição e fatores essenciais de qualidade dos corantes empregados na produção e alimentos e bebidas, 1978. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 31 de outubro de 2012.

BRUNNER, G. **Gas extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluid and the application to separation process**. Darmstadt, Germany, Steinkopf; New York Springer, 387 p, 1994.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application fo food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 21-33, 2005.

CANTO, W. L; OLIVEIRA, V.P.; CARVALHO, P.R.N.; GERMER, S.P.M.. **Produção e mercado de Urucum no Brasil**. Campinas: ITAL, p. 8-19, 1991.

CARVALHO, P. R. N.; HEIN, M. Urucum – Uma fonte de corante natural. **Coletânea ITAL**, v.19, n. 1, p. 25 – 33, 1989.

CARVALHO, P. R. N.; CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B. Estudo da composição de sementes, cachopas, folhas e galhos do urucueiro. In. Seminário Internacional de Corantes Naturais para Alimentos, 1991, Campinas - SP. **Resumos...** Campinas: ITAL, 1991. 317 p.

CARVALHO, P. R. N. **O urucum: história, ciência, tecnologia e curiosidades.** Página de internet disponível em <<http://www.ourucum.com.br>>, acesso em novembro de 2015.

CARVALHO, P. R. N.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; MARTINS, A. L. M. Concentração de Lípidos, Carotenoides Totais, Geranilgeraniol e Tocotrienol em Diferentes Acessos de urucum da Coleção do Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Artigo disponível em <<http://ourucum.com/resources/Artigo%20cient%C3%ADfico%20Carvalho%20et%20al%20091014.pdf>>, acesso em novembro de 2015.

CEMIG – Companhia Energética de Minas Gerais. **Valores de Tarifas e Serviços.** Página de internet disponível em <[https://www.cemig.com.br/pt-br/atendimento/Paginas/valores\\_de\\_tarifa\\_e\\_servicos.aspx](https://www.cemig.com.br/pt-br/atendimento/Paginas/valores_de_tarifa_e_servicos.aspx)>, acesso em dezembro de 2015.

CHAO, R. R.; MULVANEY, S. J.; SANSON, D. R.; HSIEH, F.; TEMPESTA, M. S. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of annatto (Bixaorellana) pigments and some characteristics of the color extracts, **Journal of Food Science**, v. 56, p. 80–83, 1991.

CHISTÉ, R. C.; MERCADANTE, A. Z.; GOMES, A.; FERNANDES, E.; LIMA, J. L. F. C.; BRAGAGNOLO, N. In vitro scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, v. 127, n.2, p. 419-426, 2011.

CHUYEN, H. V.; NGOC HOI, N. T.; EUN J-B. Improvement of bixin extraction yield and extraction quality from annatto seed by modification and combination of different extraction methods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 1333–1338, 2012.

CLIFFORD, T. **Fundamentals of Supercritical Fluids**, Oxford University Press: New York, E.U.A., 210 p., 1999.

COELHO, A. M. S. P.; SILVA, G. A.; VIEIRA, O. M. C.; CHAVASCO, J. K. Atividade antimicrobiana de Bixa orellana L. (Urucum). **Revista Lecta**, v. 21, n. 1, p. 47-54, 2003a.

COELHO, C.; SANTANA, E.; FARIA, L.; COSTA, C. Processamento de Sementes de Urucum em Leito de Jorro. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v.1, n.3, p. 2171-2176, 2015.

COELHO, J. A. P.; PEREIRA, A. P.; MENDES, R. L.; PALAVRA, A. M. F. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of *Foeniculum vulgare* Volatile Oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n. 4, p. 316-319, 2003b.



CONCEIÇÃO FILHO, R.S. **Recobrimento de Sementes de Soja com fertilizantes em Leito de Jorro**, Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 1997.

COSTA, C. K.; SILVA, C. B.; LORDELLO, A. L. L.; ZANIN, S. M. W.; DIAS, J. F. G.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Identificação de  $\delta$  tocotrienol e de ácidos graxos no óleo fixo de urucum (*Bixa orellana* Linné). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, p. 508-512, 2013.

CRAVEIRO, A. R.; OLIVEIRA, C. L. A.; ARAUJO, F. W. L. The presence of geranylgeraniol in *Bixa orellana*, Linn. **Química Nova**, v. 12, n. 3, 1989.

CUNHA, F.G. **Estudo da Extração Mecânica de Bixina das Sementes de Urucum em Leito de Jorro**. Dissertação de mestrado, Faculdade de engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 2008.

CUNHA, F. G.; SANTOS, K. G.; ATAÍDE, C. H.; EPSTEIN, N.; BARROZO, M. A. S. Annatto Powder Production in a Spouted Bed: An Experimental and CFD Study. **Industrial & Engineering Chemical Research**, v. 48, p. 976–982, 2009.

DEGNAN, A.J.; VON ELBE, J.H.; HARTEL, R.W. Extraction of annatto seed pigment by supercritical CO<sub>2</sub>, **Journal of Food Science**, n. 56, p. 1656–1659, 1991.

DUARTE, C. R.; MURATA, V. V.; BARROZO, M. A. S. A study of the fluid dynamics of the spouted bed using CFD, **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 22, p. 263-266, 2005.

DUARTE, C.R. **Estudo experimental e de simulação da fluidodinâmica e recobrimento em leito de jorro**. Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2006.

DUNFORD, N. T.; KING, J. W.; LIST, G. R. **Supercritical Fluid Extraction in Food Engineering. In: Extraction Optimization in Food Engineering**. Editors: C. Tzia and G. Liadakis. Chapter 3, p. 57-93. Marcel Dekker, Inc., NY. 2003.

EMEPA – Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S/A. Governo do Estado da Paraíba. Página da internet disponível em <http://www.emepa.org.br>. Acesso em outubro de 2012

EPSTEIN, N.; GRACE J. R. **Spouting of particulate solids. In: Handbook of Powder Science and Technology**, Cambridge University Press. 2º Edição. New York: Chapman and Hall, Cap. 10, p. 532-567, 1997.

EPSTEIN, N.; GRACE J. R. **Spouted and Spout-Fluid Beds – Fundamentals and Applications. Handbook of Powder Science and Technology**. 1º Edição. Cambridge, p.1-14, 2011.

EZEQUIAS FILHO, P. S.; SOUZA, G. M.; PEREIRA, G. G.; SOUZA, J. O. **Extração Mecânica da Bixina em leito de Jorro Cônico**. Relatório Interno, DEQ/UFMG, Belo Horizonte – MG, 1994.

FARIA, L. J. G.; COSTA, C. M. L. Tópicos Especiais em Tecnologia de Produtos Naturais, **Série Poema UFPA Belém**, n.7, 302 p., 1998.

FLEISCHER, T. C.; AMEADE, E. P. K.; MENSAH, M. L. K.; SAWER, I. K. Antimicrobial activity of the leaves and seeds of *Bixa orellana*. **Fitoterapia**, v. 74, p. 136 – 138, 2003.

FREGA, N.; MOZZON, M.; BOCCI, F. Identification and estimation of tocotrienols in the annatto lipid fraction by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n.12, p. 1723-1727, 1998.

GAYDOU, E. M.; RAMANOELINA, A. R. P. Study of Fatty Acids Composition of Plant Oil Extracts from Madagascar. **French Review of Body Fat**, n. 30, p.21-25, 1983.

GIBBS, B. S.; ZAHN, T. J.; MU, Y.; SEBOLT-LEOPOLD, J. S.; GIBBS, R. A. Novel farnesol and geranylgeraniol analogues: a potential new class of anticancer agents directed against protein prenylation. **Journal of medicinal chemistry**, v. 42, n.19, p. 3800-3808, 1999.

GOMES, S. D. S.; BRUNO, R. Influência da temperatura e substratos na germinação de sementes de urucum (*Bixa orellana* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 14, n. 1, p. 4750, 1992.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

GORDON, M. H.; SOTIRIOS, K. Antioxidant properties of annatto carotenoids. **Food Chemistry**, v. 83, p. 523 – 229, 2003.

GUINAZI, M.; MILAGRES, R. C. R. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; CHAVES, J. B. P. Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. **Química Nova**, v. 32, n.8, p. 2098-2103, 2009.

HENRY, B. S. **Natural food colours**. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**. 2.ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow: Blackie Academic & Professional, p. 40-79, 1996.

HYATT, J. A., KOTTAS, G. S., & EFFLER, J. Development of synthetic routes to d, l- $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) from biologically produced geranylgeraniol. **Organic process Research & Development**, v. 6, n. 6, p. 782-787, 2002.

HUSSEIN, D.; MO, H.  $\delta$ -[delta]-Tocotrienol-Mediated Suppression of the Proliferation of Human PANC-1, MIA PaCa-2, and BxPC-3 Pancreatic Carcinoma Cells. **Pancreas**, v. 38, n. 4, p. 124-136, 2009.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Produção Agrícola Municipal, 2014. Página de internet disponível em <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa\\_resultados.php?id\\_pesquisa=44](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/pesquisa_resultados.php?id_pesquisa=44)>, acesso em novembro de 2015.

IROBI, O. N.; MOO-YOUNG, M.; ANDERSON, W. A. Antimicrobial activity of annatto (Bixa orellana) extract. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 34, n. 2, p. 87 - 90, 1996.

JECFA/FAO. **Annatto**. In: ONLINE EDITION: COMBINED COMPENDIUM OF FOOD ADDITIVE SPECIFICATIONS, 2006. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfaadditives/results.html?additiveName=annatto&ins=&cas1=&cas2=&cas3=&techFunction=-1&searchBy=aname>>. Acesso em: 13 set. 2006(a).

JECFA/FAO. **Toxicological recommendations and information on specifications**. In: SUMMARY AND CONCLUSIONS OF JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES – 67TH MEETING, 2006. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/jecfa67\\_final.pdf](ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/jecfa67_final.pdf)>. Acesso em: 13 set. 2006(b).

JITTANIT, W.; SRZEDNICKI, G.; DRISCOLL, R. H. Comparison between fluidized bed and spouted bed drying for seeds. **Drying Technology**, v. 31, n. 1, p. 52-56, 2013.

KIOKIAS, S.; GORDON, M.H. Antioxidant properties of annatto carotenoids. **Food Chemistry**, n. 83, v. 4, p. 523 – 529, 2003.

LEE, I. M.; COOK, N. R.; GAZIANO, J. M.; GORDON, D.; RIDKER, P. M.; MANSON, J. E.; HENNEKENS, C. H.; BURING, J. E. Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. **Journal of American Medical Association**, vol. 294, n. 1, p. 56-65, 2005.

LIMA, L. R. P.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; STRINGHETA, P. C.; TINOCO, A. L. A.; SILVA, J. F. Bixina, Norbixina e Quercitina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 4, p. 196 – 200, 2001.

LOBATO, F. S., OLIVEIRA-LOPES, L. C., MURATA, V. V.; STEFFEN, V. Solution of Multi-Objective Optimal Control Problems with Fluctuation Index Using Differential Evolution. In 6th DINCON–Brazilian Conference on Dynamics, Control and Their Applications – **Proceedings..** São José do Rio Preto-Brasil, 2007.

LOBATO, F. S. **Otimização Multi-objetivo para o Projeto de Sistemas de Engenharia.** Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 2008.

LOURENÇO, R. O. **Identificação e Monitoramento de regimes em Leito de Jorro Convencional.** Dissertação de mestrado, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia – MG, 2006.

MAJOLO, C.; CARVALHO, H. H. C.; WEIST, J. M. Atividade antibacteriana in vitro de diferentes acessos de urucum (*Bixa orellana*) e sua relação com o teor de bixina presente nas sementes. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (on line)**, v. 31, p. 115-124, 2013

MASSARANI, G.; PASSOS, M. L.; BARRETO, D. W. Production of Annatto Concentrates in Spouted Beds. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 70, n. 5, p. 954 - 959, 1992.

MATHUR, K. B., EPSTEIN, N. **Spouted Beds.** Academic Press: New York, 1974.

MCKEOWN, G. G.; MARK, E. The composition of oil-soluble annatto food colors. **Journal of the AOAC**, v. 45, n. 3, p. 761-766, 1962.

MARNASIDOU, K. G.; VOUTETAKIS, S. S.; TJATJOPOULOS, G. J.; VASALOS, I. A. Catalytic partial oxidation of methane to synthesis gas in a pilot-plant-scale spouted-bed reactor. **Chemical Engineering Science**, v. 54, n. 15, p. 3691-3699, 1999.

MARTINS, G. Z.; OLIVEIRA, W. P. Utilização do leito de jorro para a aplicação de revestimento entérico em cápsulas gelatinosas duras. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 3, p. 299-307, 2003.

MASSARANI, G.; PASSOS, M. L.; BARRETO, D. W. Production of Annatto Concentrates in Spouted beds. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 70, p. 954-959, 1992.

MATHUR, K. B. **Spouted beds**. In: DAVIDSON, J. F.; HARRISON, D. **Fluidization**. 1º Edição. London: Academic Press, 1971. Cap. 17, p. 711-742.

MATHUR, K. B.; EPSTEIN, N. **Spouted beds**. 1º Edição. London: Academic Press, 303 p, 1974.

MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, N. I. L. Fatty Acids from Tropical Oilseeds in Brazilian Northwest. **New Chemistry**, v. 15, n.3, p. 181-185, (1992).

McHUGH, M. A.; KRUKONIS, V. J. **Supercritical fluid extraction: Principles and Practice**. Butterworth Stoncham: Boston, MA, 3 ed, 1994.

MENDONÇA, J. F. C. **Estudo da Produção de Bixina por Extração Mecânica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Engenharia Química. Belo Horizonte – MG, 1999.

MIQUEL, K.; PRADINES, A.; TERCÉ, F.; SELMI, S.; FAVRE, G. Competitive inhibition of choline phosphotransferase by geranylgeraniol and farnesol inhibits phosphatidylcholine synthesis and induces apoptosis in human lung adenocarcinoma A549 cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 273, n. 40, p. 26179-26186, (1998).

MIYAZAWA, T.; NAKAGAWA, K.; SOOKWONG, P. Health Benefits of Vitamin E in Grains, Cereals and Green Vegetables. **Trends in Food Science and Technology**, v. 22, n. 12, p.651-654, 2011.

MONTES, C.; VICÁRIO, I. M.; RAYMUNDO, M.; FETT, R.; HEREDIA, F. J. Application of tristimulus colorimetry to optimize the extraction of anthocyanins from Jaboticaba (*Myrcia Jaboticaba* Berg.). **Food Research International**, v. 38, n. 8–9, p. 983-988, 2005.

MORAES, M. N.; ZABOT, G. L.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of tocotrienols from annatto seeds by a pseudo continuously operated SFE process integrated with low-pressure solvent extraction for bixin production. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.96, p. 262-271, 2015.

NAJAR, S. V.; BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. Effects of light, air, anti-oxidants and prooxidants on annatto extracts (*Bixa orellana*). **Food Chemistry**, v. 29, n. 4, 1988.

NOBRE, B. P., MENDES, R. L., QUEIROZ, E. M., PESSOA, F. L. P., COELHO, J. P., PALAVRA, A. F. Supercritical carbon dioxide extraction of pigments from *Bixaorellana* seeds (experiments and modeling), **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 23, p. 251–258, 2006.

OLAZAR, M.; AGUADO, R.; BILBAO, J.; BARONA, A. Pyrolysis of sawdust in a conical spouted-bed reactor with a HZSM-5 catalyst. **AIChE Journal**, v. 46, n.5, p. 1025-1033, 2000.

ÖZGEN, S., YILDIZ, A., ÇALIŞKAN, A., & SABAH, E. Modeling and optimization of hydrocyclone processing of low grade bentonites. **Applied Clay Science**, v. 46, n. 3, p. 305-313, 2009.

PASSOS, M. L.; OLIVEIRA, L. S.; FRANCA, A. S.; MASSARANI, G. Bixin powder production in conical spouted bed units. **Drying Technology**, v. 16, n. 9-10, p. 1855-1879, 1998.

PATACSIL, D.; OSAYI, S.; TRAN, A. T.; SAENZ, F.; YIMER, L.; SHAJAHAN, A. N.; GOKHALE, P. C.; VERMA, M.; CLARKE, R.; CHAUHAN, S. C.; KUMAR, D. Vitamin E Succinate Inhibits Survivin and Induces Apoptosis in Pancreatic Cancer Cells. **Genes and Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 83-89, 2012.

PIERPAOLI, E.; VIOLA, V.; BARUCCA, A.; ORLANDO, F.; GALLI, F.; PROVINCIALI, M. Effect of annatto-tocotrienols supplementation on the Development of Mammary Tumors in HER-2/neu Transgenic Mice. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 53, p.S46-S47, 2012.

PRENTICE-HERNANDEZ, C.; RUSIG, O. Extrato de urucum (*Bixa orellana* L.) obtido utilizando álcool etílico como solvente. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 35, n. 1, p. 63-74, 1992.

PRESTON, H.; RICKARD, M. Extraction and chemistry of annatto. **Food Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 47-56, 1980.

PRICE, K.; STORN, R. Differential evolution - a simple evolution strategy for fast optimization, **Dr. Dobb's Journal**, v. 22, p. 18-24, 1997.

RAHMAN, S.; BHATIA, K.; KHAN, A. Q.; KAUR, M.; AHMAD, F.; RASHID, H.; ATHAR, M.; ISLAM, F.; RAISUDDIN, S. Topically Applied Vitamin E Prevents Massive Cutaneous Inflammatory and Oxidative Stress Responses Induced by Double Application of 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate (TPA) in Mice, **Chemico-Biological Interactions**, v. 172, n. 3, p. 195-205, 2008.

RAMOS, A.; SILVA, A. L. A.; FINZER, J. Estudo da Secagem de Pasta de Amido em Leito de Jorro com Partículas Inertes. **FAZU em Revista**, n. 2, p. 118-125, 2010.

RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction in Food Processing industry: An Overview. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 5, p. 269-284, 2002.

RIZVI, S. S. H.; BENADO, A. L.; ZOLLWEG, J. A.; DANIELS, J. A. Supercritical fluid extraction: fundamental principles and modeling methods. **Food Technology**, v. 40, n. 6, p. 55-65, 1986.

RODRIGUES, L. M.; ALCÁZAR-ALAY, S. C.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Bixin extraction from defatted annatto seeds. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 268-283, 2014.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D. **Evaluation of assay procedures for the bixinoid pigments in annatto seeds and their derivates**. Interim Report, natural Resources Institute, Kent, UK, 31p, 1988.

ROZZI, N. L.; SINGH, R. K. Supercritical fluids and the food industry. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 1, n. 1, p. 33-44, 2002.

SANTOS, D. T.; ALBUQUERQUE, C. L. C.; MEIRELES, M. A. A. **Antioxidant dye and pigment extraction using a homemade pressurized solvent extraction system**. In: SARAVACOS, G., et al (Ed.). 11th International Congress on Engineering and Food. Amsterdam: Elsevier Science Bv, v. 1, p. 1581-1588, 2011a.

SANTOS, D. A.; DUARTE, C. R.; PETRI JUNIOR, I. Estudo Experimental e de Simulação da Estabilidade Fluidodinâmica do Leito de Jorro Operando com Mistura de partículas. **Horizonte Científico**, v. 5, n. 2, 2011b.

SANTOS, K. E. V.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; CARVALHO, P. R. N. Extração e Separação de Geraniol em Sementes de Urucum. In: 46º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica - CIIC 2012, **Anais...** – Jaguariúna- SP, 2012

SANTOS, L. F.; DIAS, V. M.; PILLA, V.; ANDRADE, A. A.; ALVES, L. P.; MUNIN E.; MONTEIRO, V. S.; ZILIO, S. C. Spectroscopic and photothermal characterization of annatto: Applications in functional foods. **Dyes and Pigments**, v. 110, p. 72-79, 2014.

SECCHI, A. R. **Otimização de Processos**. Apostila do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 165p. 2001.

SHIBATA, A.; NAKAGAWA, K.; SOOKWONG, P.; TSUZUKI, T.; OIKAWA, S.; MIYAZAWA, T. Tumor anti-angiogenic effect and mechanism of action of  $\delta$ -tocotrienol. **Biochemical pharmacology**, v. 76, n. 3, p. 330-339, 2008.

SHIBATA, S. K.; SANDLER, S. I. High pressure vapor-liquid equilibria of mixtures of nitrogen, carbon dioxide, and cyclohexane. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 34, n. 4, p. 419-424, 1989.

SHUHAMA, I. K.; AGUIAR, M. L.; OLIVEIRA, W. P.; FREITAS, L. A. P. Experimental production of annatto powders in spouted bed dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 59, n. 1, p. 93-97, 2003.

SILVA, C. R.; ANTUNES, L. M., BIANCHI, M. L. P. Antioxidant action of bixin against cisplatin-induced chromosome aberrations and lipid peroxidation in rats. **Pharmacological Research**, v. 43, n. 6, p. 561 – 566, 2001.

SILVA, G. F. **Processamento de urucum em Leito de Jorro**. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Engenharia Química – Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande – PB, 1991.

SILVA, G. F.; GAMARRA, F. M. C.; OLIVEIRA, A. L.; CABRAL, F. A. Extraction of bixin from annatto seeds using supercritical carbon dioxide, **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 25, p. 419–426, 2008.

SILVA, F. A. L.; SILVA, M. G.; FABRI, E. G.; CARVALHO, P. R. N. Avaliação dos teores de geranilgeraniol em diferentes acessos de urucum - Extração, separação e purificação de geranilgeraniol extraídos de sementes de urucum. In: 5º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, **Anais...** Campinas, SP, 2011a.

SILVA, G. F.; CAVALCANTI, S. A.; SOBRAL, M. C. Extração de corantes do urucum II. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v. 43(1-2), p. 58-64, 1994.

SILVA, M. G.; LUIZ, F. A.; ROCHA, F. W.; LEAL, R. N.; CARVALHO, P. R. N. Validação do método analítico de determinação de geranilgeraniol em sementes de urucum. In: 12ª Reunião Nacional da Cadeia de Urucum, **Anais...**, Instituto de Tecnologia de Alimentos Campinas-SP, 2010.

SILVA, P. I. **Métodos de Extração e Caracterização de Bixina e Norbixina em Sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)**. Dissertação de mestrado, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2007.

SILVA, D. O.; TAMIOZZO, L. M.; DUARTE, C. R.; MURATA, V. V.; BARROZO, M. A. S. Modeling of seed coating in spouted bed. **Drying Technology**, v. 29, p. 286-294, 2011.



SILVA, D. O.; VIEIRA, L. G. M.; LOBATO, F. S.; BARROZO, M. A. S. Optimization of the design and performance of hydrocyclones by Differential Evolution technique. **Chemical and Engineering Processes: Process Intensification**, v. 61, p. 1-7, 2012.

SMITH J. **Annatto extracts – chemical and technical assessment**. In: Chemical and Technical Assessment Manual, p. 1-21, 2006.

STORN, R. **Differential Evolution Design of an IIR-Filter with Requirements for Magnitude and Group Delay**. Berkeley, CA: International Computer Science Institute, TR-95-026, 15p, 1995.

STRINGHETA, P. C.; SILVA, P. I. **Pigmentos de urucum: Extração, reações químicas, usos e aplicações**. Suprema. Viçosa, 2008.

SUN, Y.; MA, A.; LI, Y.; HAN, X.; WANG, Q.; LIANG, H. Vitamin E Supplementation Protects Erythrocyte Membranes from Oxidative Stress in Healthy Chinese Middle-Aged and Elderly People. **Nutrition Research**, v. 32, n. 5, p. 328-334, 2012.

TAHAM, T.; CABRAL, F. A.; BARROZO, M. A. S. Extraction of bixin from annatto seeds using combined technologies. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 100, p. 175-183, 2015.

TAHAM, T.; SILVA, D. O.; BARROZO, M. A. S. Improvement of bixin extraction from annatto seeds using a screen-topped spouted bed. **Separation and Purification Technology**, v. 158, p. 313-321, 2016.

TAN, B. Appropriate spectrum vitamin E and new perspectives on desmethyltocopherols and tocotrienols. **Journal of American Nutraceutical Association**, v. 8, p. 35–42, 2005.

TAVARES, L. E.; DIAS, A. R.; ATAÍDE, C. H.; BARROZO, M. A. S. Extração Mecânica da Bixina em leito de Jorro: influência do “*draft*”, da Carga do Material e da vazão de Ar. Congresso de Engenharia de processos do Mercosul, Empromer - **Anais...** Florianópolis – SC, 1999.

VILELA, A. O.; BARONCELLI, F.; QUEIROZ, F. M.; MENDONÇA, J. C. F.; CAPANEMA, L. X. L.; RESENDE, M. S. **Extração Mecânica da Bixina da Semente de urucum em leito de Jorro Cônico**. Relatório Interno DEQ/UFMG, Belo Horizonte – MG, 69 p., 1996.

YEGANEHJOO, H. **Inhibitory effects of geranylgeraniol and beta-ionone on the mevalonate and nuclear factor kappaB pathways in human DU145 prostate carcinoma cells.** Doctoral dissertation, Texas Woman's University, 2012.

WANG, J.; SUN, P.; BAO, Y.; DOU, B.; SONG, D.; LI, Y. Vitamin E Renders Protection to PC12 Cells Against Oxidative Damage and Apoptosis Induced by Single-Walled Carbon Nanotubes. **Toxicology in Vitro**, v. 26, n. 1, p. 32 - 41, 2012.

ZANELLA, W. C. **Efeito da temperatura e do pH na Estabilidade de Corantes Naturais Utilizados em Alimentos.** Trabalho de conclusão de curso apresentado na Universidade Federal de Alfenas – Faculdade de Engenharia Química, 2014.