

EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DO ÓLEO DE FARELO DE ARROZ

J. F. SOARES¹, M. A. MAZUTTI¹, J. MARTÍNEZ², J. R. F. SILVA¹, F. C. LUNELLI¹ e M. de SOUZA¹

¹ Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Engenharia Química

² Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Engenharia de Alimentos
E-mail para contato: eng.juferreira@gmail.com

RESUMO – O óleo do farelo de arroz é uma fonte natural rica em antioxidantes e ácidos graxos, os quais são de grande interesse para aplicação na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica. O objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de extração supercrítica do óleo de farelo de arroz, além de determinar o rendimento global, a cinética de extração e a atividade antioxidante dos extratos. As condições de pressão e temperatura foram variadas entre 150 e 250bar e 40 a 80°C, respectivamente. As extrações foram realizadas utilizando CO₂ em uma vazão de 4g/min durante 4 horas e a atividade antioxidante foi determinada pelo método do radical DPPH. A condição ótima de extração foi a 40°C e 250bar, com rendimento de 12,68%. A atividade antioxidante variou entre 25,81 e 59,00%, onde a maior porcentagem foi encontrada na condição de maior rendimento global. O processo de extração supercrítica do óleo de farelo de arroz mostrou um ótimo rendimento de extrato, o qual apresentou bom potencial antioxidante.

1. INTRODUÇÃO

Dentre os óleos comestíveis, o óleo do farelo de arroz (RBO) (20-25 % do farelo) é uma rica fonte natural em antioxidantes e contém uma composição balanceada de ácidos graxos, o que é de grande interesse para aplicação na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica (Embrapa, 2013; Jesus *et al.*, 2010). O RBO contém 95,6% de lipídios saponificáveis, incluindo glicolipídios e fosfolipídios, e 4,2% de lipídios insaponificáveis, incluindo tocoferóis, tocotrienóis, oryzanóis, esteróis e carotenóides (Chen *et al.*, 2008). Os compostos bioativos encontrados no RBO (γ -orizanol, tocotrienóis e tocoferóis) têm alto poder de ação antioxidante e têm demonstrado várias atividades benéficas à saúde, como a redução dos níveis de colesterol (Ismail *et al.*, 2010).

O RBO pode ser extraído usando o método convencional com solventes orgânicos (hexano) ou a partir da tecnologia de extração com fluido supercrítico (SFE) (Patel e Naik, 2004). Estima-se que no processo de extração convencional sejam liberados de 2 a 10 litros de hexano por tonelada de farelo para a atmosfera, causando poluição ambiental e consequentes problemas à saúde. O produto obtido na extração com solvente orgânico contém níveis elevados de cera (2-4%), gomas (fosfolípidos) (1-2%), ácidos graxos livres (5-25%) e pigmentos, tornando o óleo extraído mais difícil de refinar. Além disso, o método convencional de refinação química destrói todo γ -orizanol e quantidades substanciais de tocoferóis e tocotrienóis (Balachandran *et al.*, 2008).

A SFE é considerada ideal para extração e fracionamento de óleos e uma alternativa ambientalmente segura quando comparada à extração convencional, além de apresentar vantagens como o aumento da seletividade e da automaticidade, e resultar em extratos livres de resíduos de solventes, tornando a qualidade do óleo superior ao extraído pelo método convencional (Wang *et al.*, 2008; Ismail *et al.*, 2010; Roseiro *et al.*, 2013). O CO₂ é o solvente mais utilizado na SFE do óleo de farelo de arroz, visto que é não tóxico, não inflamável, não corrosivo e está disponível a baixo custo com alto grau de pureza (Ismail *et al.*, 2010; Roseiro *et al.*, 2013). O CO₂ é gás sob temperatura e pressão ambiente, o que permite a separação completa simplesmente pela despressurização (Herrero *et al.*, 2010).

O rendimento de RBO pode ser melhorado pela otimização das condições do processo da extração supercrítica com dióxido de carbono (SFE-CO₂) (Balachandran *et al.*, 2008). As condições de temperatura e pressão de extração, e consequentemente a densidade do CO₂, influenciam na solubilidade e na seletividade dos compostos presentes no óleo, permitindo obter um produto de melhor rendimento e qualidade adequada (Michelin, 2002). Com isto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as condições de temperatura e pressão no processo SFE-CO₂ de farelo de arroz, além de determinar o rendimento global, a cinética de extração e a atividade antioxidante dos extratos.

2. METODOLOGIA

2.1. Materiais

Para a realização dos experimentos foi utilizado farelo de arroz, proveniente da safra de 2013 da Indústria Primo Berleze e Cia. Ltda.. O diâmetro médio das partículas era de 320,12µm. As amostras de farelo foram congeladas, mantendo uma temperatura baixa (-4°C), para evitar a degradação das mesmas. Nas extrações supercríticas foi utilizado como solvente o CO₂ (99,5% de pureza) de procedência da empresa Air Liquide. A extração convencional foi utilizado o extrator Soxhlet (Marconi, Modelo MA491/6) e hexano como solvente.

2.2. Extração supercrítica com CO₂

Os experimentos de extração foram realizados em uma unidade experimental composta basicamente de um cilindro de solvente (CO₂), uma célula (encamisada) de aço inox com volume interno de 50 mL, uma bomba de alta pressão do tipo seringa (ISCO, modelo 500D) e dois banhos termostáticos (Quimis, modelo Q214M2). Para uma melhor elucidação da metodologia utilizada na obtenção dos extratos em escala laboratorial, empregando SFE-CO₂, um diagrama esquemático do processo de extração supercrítica é apresentado na Figura 1.

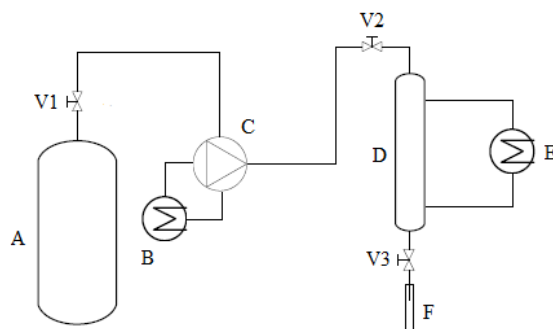


Figura 1 – Esquema da unidade experimental de extração supercrítica. (A) cilindro de CO₂; (B e E) banhos termostáticos; (C) bomba de alta pressão; (D) célula de extração; (F) tubo de ensaio (coletor); (V1 e V2) válvulas de bloqueio; (V3) válvula micrométrica.

Primeiramente a célula de extração (D) era carregada com 10g de farelo de arroz, formando um leito de material vegetal. Em seguida, o banho termostático (B) conectado à bomba de alta pressão (C), era acionado na temperatura de 5°C para manter constante a temperatura de alimentação do solvente, e o banho termostático (E), conectado ao reator, na respectiva temperatura de extração. Após os banhos atingirem às determinadas temperaturas, o solvente (CO₂) era fornecido ao sistema através do cilindro (A) por aproximadamente 15 minutos. Então, dava-se início ao aumento de pressão lentamente através da bomba de alta pressão para a pressurização do sistema. Estabilizada a pressão, o processo de extração era iniciado. O extrato era coletado em tubos de ensaio (F) abrindo-se a válvula micrométrica (V3), localizada na saída do extrator, em uma vazão de 4gCO₂/min na bomba.

Para avaliar o processo de extração supercrítica foram investigados os efeitos de temperatura (40-80°C) e de pressão (150-250 bar) no rendimento global de extração e nos parâmetros cinéticos. A Tabela 1 apresenta o planejamento fatorial 2² utilizado neste trabalho, sendo realizada triplicata no ponto central. Os resultados foram analisados usando o software Statistica 8.0, considerando um nível de significância de 95%.

Tabela 1 – Planejamento experimental fatorial 2² + 3 das extrações com CO₂ supercrítico

Experimento	Pressão (X ₁)	Temperatura (X ₂)	Pressão (bar)	Temperatura (°C)
1	+1	+1	150	40
2	-1	+1	250	40
3	+1	-1	150	80
4	-1	-1	250	80
5	0	0	200	60

As curvas cinéticas de extração (OECs) foram determinadas a partir dos valores de massa extraída acumulada em função do tempo, para isso as amostras eram retiradas em intervalos de 15 min para a quantificação da massa de extrato. As OECs fornecem informações sobre o comportamento cinético da extração, possibilitando a determinação da condição mais viável para um processo SFE. Após o término da extração as amostras foram congeladas para posterior análise da atividade antioxidante.

Para fins de comparação foi realizada extração do RBO pelo método convencional, utilizando o extrator Soxhlet por 2 horas, e utilizando hexano como solvente. A extração foi realizada em triplicata. No final o solvente foi evaporado e a massa de óleo quantificada pelo método gravimétrico.

2.3. Atividade Antioxidante: Método do radical DPPH•

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo método sintético (DPPH). A atividade antioxidante foi determinada da seguinte forma: 1500 µL da amostra foram adicionadas a 1480 µL da solução de DPPH e 20 µL da solução de trabalho. Paralelamente foi conduzido um branco para cada amostra contendo 1500 µL da amostra e 1500 µL de solução de trabalho. Foi necessário conduzir um branco para o DPPH para o cálculo da atividade antioxidante, dessa forma 1480 µL de DPPH foram adicionados a 1520 µL de solução de trabalho. Após 30 minutos de reação sob abrigo da luz as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro UV-VIS (UV-2600) a 522 nm. A porcentagem da atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi calculada conforme Equação 1.

$$AA_{DPPH} = \left(\frac{A_{DPPH}(A - A_B)}{A_{DPPH}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Onde, A_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH, A e A_B são as absorbâncias da amostra e branco, respectivamente. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUÇÃO

3.1. Extração supercrítica com CO₂

O rendimento global tem sido o método mais representativo na seleção das condições de temperatura e pressão no processo de SFE-CO₂ (Prado, 2005). Os resultados de rendimento das SFE-CO₂ de óleo de farelo estão apresentados da Tabela 2. O maior rendimento de extrato foi alcançado na condição de temperatura e pressão de 40°C e 250bar, respectivamente. Observa-se que, nos experimento de 1 a 4, o rendimento de extrato foi maior nas condições de pressão mais elevada em condições isotérmicas e nas condições de temperatura mais baixa em condições isobáricas, ou seja, quando a densidade do CO₂ era maior. A densidade do solvente está diretamente relacionada com a solubilidade do óleo no mesmo, por isso a importância da otimização das variáveis do processo.

Tabela 2 – Rendimento de RBO nas extrações supercríticas realizadas durante 4 horas e com vazão de CO₂ de 4 ml/min

Experimento	Condições de extração	Densidade do CO ₂ (Kg/m ³)	Rendimento global (%)
1	40°C/150bar	792,33	9,89
2	40°C/250bar	892,86	12,68
3	80°C/150bar	432,19	0,70
4	80°C/250bar	691,82	12,24
5	60°C/200bar	732,43	10,07 ± 0,17

As curvas cinéticas de SFE-CO₂ foram geradas pelo rendimento de massa acumulada de RBO em função do tempo de extração, como mostra a figura 2. Observou-se que na melhor condição de extração (40°C e 250bar) foi obtido rendimento maior que as demais em apenas 75 minutos de extração. Isto ocorre porque com maior pressão e menor temperatura, a densidade aumenta, e o óleo é facilmente extraído e dissolvido na fase fluida devido ao aumento do poder de solvatação do CO₂ (Michielin, 2002). O poder de solvatação do solvente sofre influência da temperatura mediante os mecanismos de densidade do solvente e de pressão de vapor do soluto. Com o aumento da temperatura ocorre a redução da densidade do CO₂, porém aumenta a pressão de vapor do soluto (Michielin, 2002). Neste caso observou-se que a influência da temperatura nas curvas de extração foi determinada pelo efeito da densidade do solvente, visto que tanto para a pressão de 150 como para 250bar, os melhores resultados foram na menor temperatura (40°C).

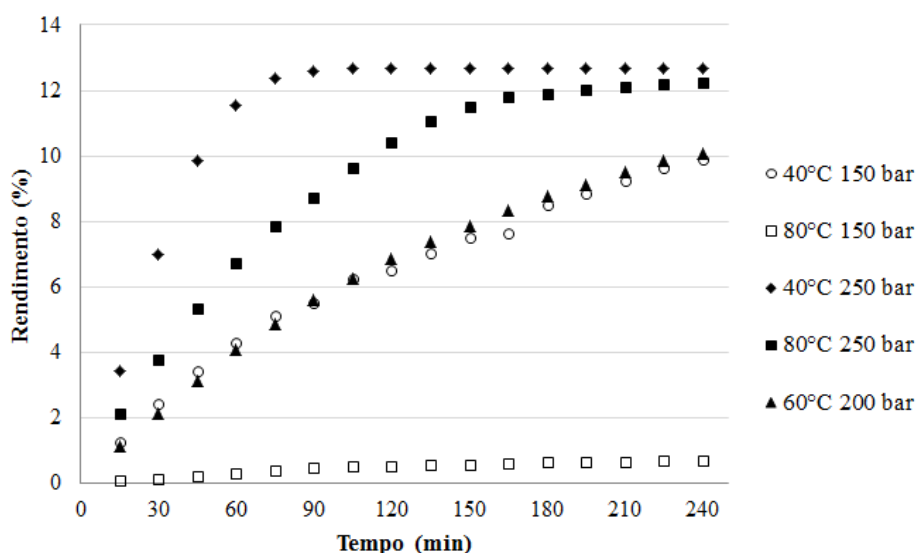


Figura 2 – Curvas cinéticas de SFE-CO₂ de óleo de farelo de arroz em diferentes condições de temperatura e pressão

A figura 2 mostra o gráfico Pareto, o qual determina os feitos das variáveis estudadas (pressão e temperatura) na extração de RBO utilizando CO₂ supercrítico ($p < 0,05$). De acordo com o gráfico a interação entre as duas variáveis foram significativas com 95% de confiança. A pressão foi significativa positivamente, indicando que com o aumento da pressão, houve um aumento no rendimento global de extrato, enquanto que a temperatura foi significativa negativamente a 95% de confiança, indicando que o rendimento foi maior em menores temperaturas.

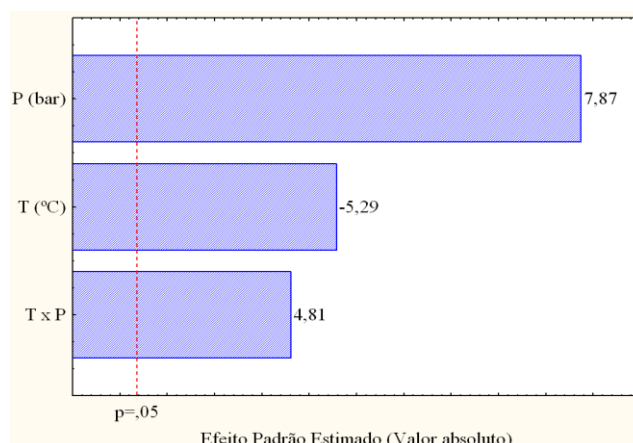


Figura 3 – Gráfico de Pareto. Efeitos para as variáveis, temperatura (T) e pressão (P) estudadas na extração de RBO utilizando CO₂ supercrítico, $p < 0,05$

Enquanto a condição de melhor rendimento utilizando SFE-CO₂ resultou em 12,68% de recuperação de óleo, na extração por Soxhlet foi recuperado 15,44% ($\pm 0,003$), ou seja, o método de SFE-CO₂ recuperou 82,12% de óleo quando comparado ao Soxhlet, mostrando um bom rendimento, visto que o hexano tem capacidade de extrair compostos de peso molecular mais elevado e sem interesse biológico, como a cera e ácidos graxos livres, além de gomas (fosfolípidos) e pigmentos (Balachandran *et al.*, 2008). A presença destes compostos faz com que sejam necessárias mais duas etapas de refino, o que é evitado na SFE-CO₂. Além disso, cabe lembrar que o hexano é um solvente tóxico. Sendo assim, a SFE-CO₂ mostra-se uma alternativa à extração por Soxhlet devido ao bom rendimento obtido e à qualidade do extrato, pois não deixa resíduo de solvente no óleo e engloba a etapa de extração e de refino em um mesmo processo.

3.1. Atividade Antioxidante: Método do radical DPPH•

Este método se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre e estável, o DPPH• (Duarte-Almeida *et al.*, 2006). O efeito antioxidante é proporcional ao desaparecimento do DPPH• nas amostras de testes (Laokuldilok *et al.*, 2011). Com base nesse princípio, o efeito de eliminação de radicais dos extratos de farelo de arroz, obtidos por meio da SFE-CO₂, foi medido e expresso em percentagem de sequestro de radicais (equação 1), como mostra a Tabela 3. Não foi possível realizar a análise do extrato obtido no experimento 3, visto a pequena quantidade de massa obtida nesta condição.

Tabela 3 – Atividade antioxidante dos extratos de farelo de arroz determinada pelo método do radical DPPH•

Experimento	Condições de extração (°C/bar)	Atividade antioxidante (%)
1	40/150	44,72 \pm 0,72
2	40/250	59,00 \pm 0,49
3	80/150	-
4	80/250	25,80 \pm 0,39
5	60/200	49,53 \pm 0,12

A tabela 3 mostra que a condição de SFE-CO₂ que apresentou maior porcentagem de atividade antioxidante ($59,00 \pm 0,49$) coincidiu com a de maior rendimento global de extrato. Os compostos antioxidantes presentes no RBO evidenciam sua melhor eficiência em relação aos compostos sintéticos estudados por Duarte-Almeida et al (2006), onde foi avaliada a atividade antioxidante dos sintéticos mais importantes, o hidroxianisol de butila (BHA) e o hidroxitolueno de butila (BHT), que apresentaram aproximadamente 25 e 15%, respectivamente, de sequestro de radicais de DPPH•. As condições de temperatura também influenciam na capacidade antioxidante dos extratos. Quando houve o aumento da temperatura, de 40 a 80°C, observou-se uma queda na porcentagem de atividade antioxidante. Este fato ocorre devido à sensibilidade ao calor de alguns compostos presentes no óleo, como, por exemplo, os ácidos graxos insaturados, que são degradados em temperaturas elevadas, o que acaba diminuindo a qualidade do extrato (Michelin, 2002; Monosroi *et al*, 2010).

4. CONCLUSÕES

Pressões mais elevadas em condições isotérmicas e temperaturas mais baixas em condições isobáricas aumentam a densidade do CO₂. Nas condições analisadas o aumento da densidade aumentou a solubilidade do óleo de farelo de arroz no solvente e a seletividade dos compostos bioativos, visto que o melhor rendimento de extrato (12,68%) e a maior porcentagem de atividade antioxidante ($59,00 \pm 0,49$) coincidiram com a condição de maior pressão e menor temperatura (250bar/40°C). A extração pelo método de Soxhlet mostrou maior rendimento ($15,44\% \pm 0,003$) do que a SFE-CO₂ (12,68%), porém a extração por Soxhlet tem a capacidade de extrair compostos de peso molecular mais elevado e sem interesse biológico, como a cera e ácidos graxos livres, além de gomas (fosfolípidos) e pigmentos. A extração de conteúdos elevados destes compostos pode ser evitada pela SFE-CO₂, e tornando desnecessárias posteriores etapas de refino do óleo. As análises de atividade antioxidante mostrou melhor resultado para a condição de maior densidade do CO₂, ou seja, sob maior pressão e menor temperatura. Altas temperaturas são cruciais para obtenção de extratos ricos em compostos bioativos de interesse, visto que alguns compostos são termosensíveis e em altas temperaturas acabam sendo degradados, comprometendo a qualidade do óleo extraído.

6. REFERÊNCIAS

- Balachandran, C.; Mayamol, S. T.; Thomas, S.; Sukumar, D.; Sundaresan, A.; Arumughan, C. An ecofriendly approach to process rice bran for high quality rice bran oil using supercritical carbon dioxide for nutraceutical applications. *Bioresour. Technol.*, v. 99, p. 2905–2912, 2008.
- Chen, C.; Wang, L.; Wang, C.; Ho, W.; Chang, C. J. Supercritical carbon dioxide extraction of rice bran oil and column partition fractionation of γ -oryzanols. *Sep. Purif. Technol.*, v. 61, p. 358–365, 2008.
- Duarte-Almeida, J. M.; Santos, R. J.; Genovese, M. I.; Lajolo, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH•. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 26(2), p. 446-452, 2006.

- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa. Disponível em: < http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcx1g7v3u.html >.
- Herrero, M.; Mendiola, J. A.; Cifuentes, A.; Ilbáñez, E. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *J. of Chromatogr. A*, v. 1217, p. 2495–2511, 2010.
- Ismail, M.; Al-Naqeeb, G.; Mamat, W. A. A.; Ahmad, Z. Gamma-oryzanol rich fraction regulates the expression of antioxidant and oxidative stress related genes in stressed rat's liver. *Nutr. & Metab.*, p. 7:23, 2010.
- Jesus, S. P.; Grimaldi, R.; Hense, H. Recovery of γ -oryzanol from rice bran oil byproduct using supercritical fluid extraction. *J. of Supercrit. Fluids*, v. 55, p. 149–155, 2010.
- Laokuldilok, T.; Shoemaker, C. F.; Jongkaewwattana, S.; Tulyathan, V. Antioxidants and Antioxidant Activity of Several Pigmented Rice Brans. *J. Agric. Food Chem.*, v. 59, p. 193–199, 2011.
- Michielin, E. M. Z. Avaliação do processo de extração com fluido supercrítico da oleoresina de cavalinha (*Equisetum arvense*). 2002. 105p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- Patel, M; Naik, S. N. Gamma-oryzanol from rice bran oil – A review. *J. of Sci. & Ind. Res.*, v. 63, p. 569-578, 2004.
- Prado, J. M. Estudo do aumento de escala do processo de extração supercrítica em leito fixo. 2005. 283p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- Roseiro, L. B.; Duarte, L. C.; Oliveira, D. L.; Roque, R.; Bernardo-Gil, M. G.; Martins, A. I.; Sepúlveda, C.; Almeida, J.; Meireles, M.; Gírio, F. M.; Rauter, A. P. Supercritical, ultrasound and conventional extracts from carob (*Ceratonia siliqua* L.) biomass: Effect on the phenolic profile and antiproliferative activity. *Ind. Crops and Prod.*, v. 47, p. 132–138, 2013.
- Wang, C.; Chen, C.; Wu, J.; Wang, L.; Chang, C. J.; Ho, W. Designing supercritical carbon dioxide extraction of rice bran oil that contain oryzanols using response surface methodology. *J. of Sep. Sci.*, v. 31, p. 1399 – 1407, 2008.