

# **AValiação DO EFEITO DAS VARIÁVEIS DE PROCESSO NA OBTENÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE CHIA POR EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM**

B. T. F. MELLO<sup>1</sup>, P. J. SILVA<sup>1</sup> e C. SILVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Tecnologia  
E-mail para contato: camiladasilva.eq@gmail.com

**RESUMO** – O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das variáveis de processo na condução da extração assistida por ultrassom do óleo de sementes de chia, bem como o perfil de ácidos graxos do extrato obtido. Os experimentos avaliam diferentes solventes para extração, sendo que os rendimentos obtidos com *n*-hexano e acetato de etila não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). Na avaliação do efeito das variáveis de processo os resultados obtidos, com acetato de etila como solvente, relatam que a quantidade de solvente utilizado da extração apresenta-se como a variável com maior efeito significativo ( $p < 0,05$ ), dentro da faixa experimental avaliada, seguida da temperatura. O maior rendimento em óleo foi obtido em 60 °C, 40 minutos de extração e razão massa de sementes: volume de solvente 1:12. O perfil de ácidos graxos do extrato reporta predominância do ácido linolênico, sendo que o mesmo apresenta similar aos extratos obtidos por outros métodos de extração.

## **1. INTRODUÇÃO**

Nos últimos anos as sementes de chia foram incluídas na dieta humana devido a sua importante composição e os benefícios que o seu consumo traz à saúde (Ixtaina *et al.*, 2011; Capitani *et al.*, 2012). De acordo com Ixtaina *et al.* (2011), a chia tem sido investigada e recomendada para o consumo, devido ao seu elevado percentual de ácidos graxos benéficos para saúde, proteínas, compostos antioxidantes e fibras alimentares. A literatura relata a adição de chia na formulação de diversos produtos alimentícios (Maruyama *et al.*, 2013, Pizarro *et al.*, 2013).

De acordo com Borneo *et al.* (2010) de 25% a 35% da composição da chia é óleo, principalmente ácidos graxos essenciais (ácido linoleico e linolênico), além de ~22% de fibras e ~24 % de proteínas. Ayerza (1995) e Dauksas *et al.* (2002) reportam que o óleo de sementes de chia é um produto com composição química variável, dependendo de vários fatores como o ambiente de cultivo e o sistema de extração. Capitani *et al.* (2012) relataram que a preparação da matéria-prima e diferentes tipos de solventes utilizados para extração do óleo podem afetar de forma diferente o seu conteúdo. Martínez *et al.* (2012) relataram que um dos principais objetivos na produção do óleo de chia é encontrar um método adequado para preservar a qualidade do óleo.

A extração assistida por ultrassom é considerada um método não convencional que vem demonstrando eficiência na extração de compostos bioativos, trazendo vantagens relacionadas ao menor consumo de solventes, baixos tempos de extração e elevados rendimentos de extração quando comparado aos métodos tradicionais (Chemat *et al.*, 2011; Vilkhue *et al.*, 2008). A presente técnica de extração é fundamentada no fenômeno de cavitação (Esclapez *et al.*, 2011), que

ocasiona a formação de cavidades, para onde os gases dissolvidos no sistema migram, formando microbolhas, que aumentam e diminuem de tamanho, gerando ciclos de expansão e compressão até que as bolhas implodem, liberando grande quantidade de calor e exercendo elevadas pressões próximas a região da implosão (Cárcel *et al.*, 2012). Essas colisões fazem com que células vegetais sejam rompidas, facilitando a difusão do solvente extrator para o interior da matriz (Patist e Bates, 2008), melhorando a transferência de massa. Somando-se a isso, o calor liberado pelas implosões aumenta a solubilidade dos analitos, favorecendo o aumento da eficiência da extração. Assim, é possível ao mesmo tempo agitar a mistura e extrair os compostos em um tempo muito mais curto que aqueles utilizados pelos métodos tradicionais de extração, utilizando uma quantidade pequena de solventes (Chemat *et al.*, 2011; Vilkhov *et al.*, 2008).

Aliado à eficiência da técnica de extração, tem-se recentemente com o desenvolvimento dos conceitos de química verde (Prado, 2003), a pesquisa da eficiência da utilização de solventes menos agressivos ao meio ambiente e que apresentem aceitáveis rendimentos quando utilizados em baixas quantidades. Sendo que o óleo de chia é utilizado principalmente como alimento, estes solventes devem ser aceitáveis pela indústria alimentícia.

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi investigar a extração assistida por ultrassom do óleo de sementes de chia e avaliação da eficiência de diferentes solventes na extração. Os experimentos foram conduzidos em um banho de ultrassom e avaliaram o efeito das variáveis operacionais (temperatura, tempo e volume de solvente) no rendimento em óleo, adotando um planejamento Box-Behnken.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Materiais**

As sementes de *Salvia hispanica* L. foram obtidas no mercado local de Umuarama (PR, Brazil). As sementes de chia apresentam composição centesimal das sementes de:  $7,82 \pm 0,06$  de umidade,  $4,77 \pm 0,09$  de cinzas,  $18,65 \pm 0,06$  de proteína,  $35,80 \pm 0,15$  de lipídeos e  $22,78 \pm 0,98$  de fibra bruta, determinada de acordo com IAL (2008). As sementes foram trituradas em moinho elétrico (Marconi) e classificadas usando peneiras da série Tyler (Bertel, ASTM) para produzir partículas com diâmetro médio de 0,3585 mm. Para as extrações foram utilizados os solventes: acetato de etila (F Maia), *n*-hexano (F Maia) e isopropanol (JT Baker). Todos os solventes e reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico. O padrão heptadecanoato de metila (>99% de pureza) e derivatizante BF<sub>3</sub>-metanol foram obtidos da Sigma-Aldrich Chemical Co.

### **2. 2. Extração Assistida por Ultrassom**

A extração das sementes de chia foi realizada em banho de ultrassom (Ultronique, Q 5.9/40A), onde 5 g de sementes foram colocadas em Erlenmeyer com tampa de vidro (250 mL) juntamente com os solventes, mantendo-se a proporção amostra-solvente estabelecida no planejamento experimental. O Erlenmeyer foi conectado a um condensador ligado a um banho refrigerado (Marconi, MA 184) e submetido ao tratamento em banho indireto de ultrassom na temperatura e durante o tempo estabelecido no planejamento experimental. Após o período de extração as amostras foram filtradas e o excesso de solvente, no filtrado, foi evaporado em rota evaporador (Marconi, MA120) e o remanescente mantido em estufa até peso constante. Os extratos foram armazenados sob refrigeração até a realização das análises, as quais foram

realizadas em duplicata. O rendimento foi calculado como a razão entre a massa extraída de óleo e a massa de polpa utilizada.

Primeiramente, avaliou-se a eficiência de diferentes solvente na extração do óleo de Chia, mantendo as variáveis temperatura, razão semente:solvente e tempo fixas. Para determinar a influência dos fatores principais sobre o rendimento da extração foram testados três níveis das variáveis, temperatura (40, 50 e 60 °C), tempo (20, 40 e 60 min) e razão semente: solvente (1:8, 1:10 e 1:12), utilizando um planejamento Box-Behnken utilizando o solvente selecionado. O software Statistica 8.0 (STATSOFT TM, Inc) foi utilizado para a análise estatística dos dados, utilizando intervalo de 95% de confiança.

## 2.2. Análise dos Ácidos Graxos

Com a finalidade de determinar o perfil de ácidos graxos totais por cromatografia gasosa, foi realizada a derivatização do óleo com solução metanólica de BF<sub>3</sub> seguindo a metodologia padrão AOAC Ce 2-66 (Walker, 1990). Posteriormente, as análises foram conduzidas em cromatógrafo a gás acoplado a espectro de massa (Thermo-Finnigan), utilizando uma coluna capilar Agilent HP-5MS (30 m x 0,250 mm x 0,25 µm) e as condições utilizadas foram: injeção de 0,4 µL no modo split 1:10, temperatura inicial da coluna de 120 °C, mantida nesta temperatura por 5 minutos, aumentando para 180 °C à taxa de 15 °C min<sup>-1</sup> e para 240 °C à 5 °C min<sup>-1</sup>, permanecendo por 5 minutos. A vazão do gás de arraste, hélio, foi de 1 mL min<sup>-1</sup>. A identificação dos componentes presentes nas amostras foi realizada pelo programa Xcalibur® (Thermo Electron) e para a quantificação dos ácidos graxos totais, heptadecanoato de metila foi utilizado como padrão interno.

## 3. RESULTADOS E DISCUÇÕES

### 3.1. Eficiência de Diferentes Solventes

Os resultados para rendimento em óleo obtidos para os diferentes solventes testados estão apresentados na Tabela 1, sendo estes resultados obtidos na temperatura de 40 °C, razão semente:solvente de 1:8 e tempo de 30 min. De acordo com a Tabela 1, os solventes com maior poder extrativo foram o *n*-hexano e acetato de etila com rendimentos de 26,51% e 25,92%, respectivamente, sendo que não foi observada diferença significativa entre estes solventes ( $p > 0.05$ ). O isopropanol apresentou 22,96% de rendimento em óleo na condição avaliada.

Os resultados obtidos podem ser explicados em função da polaridade do solvente. O *n*-hexano é um solvente não polar e o acetato de etila e isopropanol apresentam índice de polaridade de 4,4 e 3,9, respectivamente. Pode-se notar que o maior rendimento em óleo foi relatado com o uso de solvente apolar e solvente polar com elevado índice de polaridade. Oliveira *et al.* (2013) reportam baixos rendimentos para a extração assistida por ultrassom do óleo de sementes de maracujá utilizando os solventes etanol e isopropanol, quando comparado com os rendimentos obtidos com *n*-hexano. Considerando que não foi observada diferença significativa entre os resultados com acetato de etila e *n*-hexano ( $p > 0,05$ ) e que o acetato de etila apresenta menor custo (Tian *et al.*, 2013), este solvente mostra-se mais adequado para extração do óleo de sementes de chia.

Tabela 1 – Resultados de rendimento em óleo na avaliação da eficiência de diferentes solventes.

Solvente	Rendimento (%)
<i>n</i> -hexano	26,51 ± 0,16 <sup>a</sup>
Isopropanol	22,96 ± 0,66 <sup>b</sup>
Acetato de etila	25,92 ± 0,08 <sup>a</sup>

### 3.2. Efeito das Variáveis Operacionais

A Tabela 3 apresenta as condições experimentais para o planejamento Box-Behnken, com 16 ensaios, bem como os resultados de rendimento em óleo nas condições avaliadas. O rendimento em óleo obtido foi de 18,95 a 27,03%, sendo que os maiores rendimentos foram obtidos em 60 °C, 40 minutos de extração e razão massa de sementes: volume de solvente 1:12.

Tabela 3 – Condições experimentais e rendimento em óleo na avaliação do efeito das variáveis operacionais utilizando um planejamento Box-Behnken.

Experimento	Tempo	Temperatura	Razão semente:solvente	Rendimento (%)
1	-1	-1	0	21,26
2	1	-1	0	24,36
3	-1	1	0	25,50
4	1	1	0	24,03
5	-1	0	-1	18,95
6	1	0	-1	22,13
7	-1	0	1	25,62
8	1	0	1	24,25
9	0	-1	-1	22,74
10	0	1	-1	23,88
11	0	-1	1	26,18
12	0	1	1	27,03
13	0	0	0	26,78±0,38 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> média de quatro experimentos.

A Tabela 4 apresenta os efeitos das variáveis independentes sobre o rendimento da extração. Para as condições experimentais utilizadas no planejamento fatorial a razão sementes:solvente e a temperatura apresentaram efeito significativo ( $p < 0,05$ ), aumentando o valor destas variáveis aumenta-se o rendimento em óleo. O efeito da quantidade de solvente é claramente observado quando comparamos os resultados dos experimentos 5-7 e 10-12, já o efeito da temperatura é verificado ao observarmos os rendimentos obtidos nos experimentos 1-3 e 5-7. Goula (2013) reporta para a extração do óleo de *Punica granatum* L. a 50°C e 40 min que o aumento da razão semente:solvente de 1:4 a 1:20 aumento o rendimento em óleo de 35 para 42%, respectivamente. A temperatura apresentou efeito significativo na extração do óleo de sementes de *Isatis indigotica* Fort para a faixa experimental de 30 a 60 °C, conforme apresenta Li *et al.* (2012).

Na faixa experimental avaliada, 20 a 60 min, o tempo de extração não apresentou efeito significativo no rendimento em óleo ( $p > 0,05$ ). Goula (2013) relatam que tempos superiores a 30 min não apresentam influencia no rendimento em óleo de *Punica granatum* L., efeito similar ao reportado por Tian *et al.* (2013).

Tabela 4 - Tabela de efeitos para as variáveis independentes na extração assistida por ultrassom do óleo de chia.

Variável	Efeito	p-valor <sup>a</sup>	Coefficiente	Erro padrão
Média/intercepto	23,82	0,00	23,82	0,110
Tempo - t (L)	0,85	0,0507	0,429	0,135
Tempo - t (Q)	2,60	0,00087	1,301	0,096
Temperatura - T (L)	1,47	0,01229	0,737	0,135
Temperatura - T (Q)	0,38	0,13812	0,193	0,096
Razão S:S - R (L)	3,84	0,00076	1,923	0,135
Razão S:S - R (Q)	1,43	0,00497	0,717	0,096
t x T	-2,28	0,00956	-1,140	0,192
t x R	-2,27	0,00961	-1,138	0,192
R x T	-0,14	0,73369	-0,071	0,192

<sup>a</sup>significância estatística  $p < 0,05$ .

A validade do modelo foi verificada pela análise do teste F, mediante dados da análise ANOVA. O modelo é validado, ou seja, se ajusta satisfatoriamente aos dados experimentais quando  $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ . O modelo obtido pela regressão linear (equação 1) explica 98,17% das variações entre os valores experimentais e os previstos pelo mesmo, indicando uma boa concordância, sendo que análise da estatística “F” apresentou valores de  $F_{\text{calc}}$  de 35,77 e  $F_{\text{tab}}$  de 3,06.

$$\begin{aligned} \text{Rendimento}(\%) = & 23,82 + 0,429 \times t + 0,737 \times T + 1,923 \times R + 0,429 \times t^2 + 0,193 \times T^2 + 0,717 \times R^2 \\ & - 1,140 \times t \times T - 1,138 \times t \times R - 0,071 \times R \times T \end{aligned} \quad (1)$$

### 3.3. Quantificação de ácidos graxos totais

A composição dos ácidos graxos do óleo das sementes de chia obtido no experimento 12 e por outros métodos de extração reportados na literatura é apresentada na Tabela 4. Em geral, os ácidos graxos podem ser classificados na seguinte ordem de abundância: ácido linolênico > ácido linoléico > ácido palmítico > ácido oleico > e ácido esteárico. Os resultados apresentados na Tabela 5 relatam distribuição semelhante entre os ácidos graxos do óleo de chia obtido neste estudo e a partir da extração por Soxhlet (*n*-hexano) e prensagem. Os principais componentes de óleos de diferentes métodos de extração foram o ácido linolênico ( $\omega 3$ ) e ácido linoleico ( $\omega 6$ ). Esses ácidos graxos são considerados essenciais (Hargrave *et al.*, 2005; Glew *et al.*, 2010), sendo que a relação  $\omega 6:\omega 3$  do óleo obtido neste trabalho foi de 1:3,24. Segundo Guimarães *et al.* (2012) a determinação da relação  $\omega 6:\omega 3$  é importante para a saúde humana já que o consumo excessivo de  $\omega 6$ , acompanhado pela diminuição da ingestão de  $\omega 3$ , é um fator de risco para doenças cardiovasculares.

Ixtaina *et al.* (2011) relatam que a incorporação de sementes de chia na dieta seria benéfico, devido ao elevado teor de AGP presentes na sua composição (9,2%). De acordo com Bowen *et al.* (2005) o consumo de óleos com elevados teores de AGPs pode fornecer benefícios a saúde, além de tornar o óleo mais estável). O óleo extraído das sementes de chia apresentou uma relação AGPI: AGS >11, considerado adequado para alimentos (Matsushita *et al.*, 2010; Ramos-Filho *et al.*, 2008; França *et al.*, 2011). Dietas com relação AGPI: AGS <0,45 são considerados inadequados devido ao seu potencial para aumentar os níveis de colesterol no sangue.

Tabela 4 – Quantificação dos ácidos graxos em óleos de Chia obtidos em diferentes condições operacionais

Método de Extração	Ultrassom	Soxhlet	Prensagem
Referência	Este Trabalho	Ixtaina <i>et al.</i> (2011)	Martínez <i>et al.</i> (2012)
Ácido Graxo <sup>1</sup>			
Palmítico	5,92±0,3	6,2±0,4	7,3±0,2
Estearico	1,94±0,5	3,0±0,7	2,8±0,2
Oleico	5,42±0,95	5,3±1,1	7,4±0,8
Linoleico	20,44±0,7	19,7±0,0	22,0±0,1
Linolênico	66,28±0,8	65,6±0,8	60,5±1,2
AGS <sup>2</sup>	7,86	9,2	10,1
AGPI <sup>3</sup>	86,72	85,3	82,5
AGPI:AGS	11,03	9,27	8,17
ω6:ω3	1:3,24	1:3,32	1:2,75

<sup>1</sup> Resultados em g 100 g<sup>-1</sup> de óleo; <sup>2</sup> AGS – ácidos graxos saturados; <sup>3</sup> AGPI – ácidos graxos poli-insaturados.

## 4. CONCLUSÕES

Os efeitos das variáveis operacionais na extração assistida por ultrassom do óleo de chia é reportada e os resultados demonstram que os solventes: acetato de etila e *n*-hexano apresentaram melhor desempenho na extração do óleo. As variáveis razão sementes:solvente e temperatura apresentam maior influência no rendimento em óleo e o tempo de extração não apresentou efeito significativo. O maior rendimento em óleo foi obtido em 60 °C, 40 minutos de extração e razão sementes:solvente 1:12. O perfil de ácidos graxos do extrato é similar aos obtidos por outros métodos de extração e apresenta predominância do ácido linolênico.

## 5. REFERÊNCIAS

- AYERZA, R. Oil content and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, v. 72, p. 1079–1081, 1995.
- AYERZA, R.; COATES, W. Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and α-linolenic content of three chia (*Salvia hispanica* L.) selections. *Ind. C. Prod.*, v. 30, p. 321–324, 2009.
- BORNEO, R.; AGUIRRE, A.; LEÓN, A.E. Chia (*Salvia hispânica* L.) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *J. Amer. Diet. Assoc.*, v. 110, p. 946–949, 2010.



- BOWEN, R.A.R.; CLANDININ, M.T. Maternal dietary 22:6n3 is more effective than 18:3n<sub>3</sub> in increasing content in phospholipids of glial cells from neonatal rat brain. *Brit. J. Nutri.*, v. 93, p. 601–611, 2005.
- CAPITANI, M.I.; SPOTORNO, V.; NOLASCO, S.M.; TOMÁS, M.C. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT – F. Scien. Techn.*, v. 45, p. 94–102, 2012.
- CÁRCEL, J.A.; PÉREZ, J. V. G.; BENEDITO, J.; MULET, A. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *J. F. Engin.*, v. 110, p. 200–207, 2012.
- CHEMAT, F.; HUMA, Z.; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultra. Sonochem.*, v. 18 p. 813–835, 2011.
- DAUKSAS, E.; VENSKUTONIS, P.R.; SIVIK, B.; NILSON, T. Effect of fast CO<sub>2</sub> pressure changes on the yield of lovage (*Levisticum officinale* Koch.) and celery (*Apium graveolens* L.) extracts. *J. Superc. Fluids*, v. 22, p. 201–210, 2002.
- ESCLAPEZ, M. D.; PÉREZ, J.V.G.; MULET, A.; CÁRCEL, J.A. Ultrasound-assisted extraction of natural products. *.F. Engin. Rev.*, v. 3, p.108–120, 2011.
- FRANÇA, P. B.; AGUIAR, A. C.; MONTANHER, P. F.; BOROSKI, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Incorporation and fatty acid composition in liver of Nile tilapia fed with flaxseed oil. *Acta Scient. Techn.*, v. 33, p. 221–225, 2011.
- GLEW, R. H.; KRAMER, J. K.; HERNANDEZ, M.; PASTUSZYN, A.; ERNST, J.; DJOMDI, N. N.; VANDERJAGT, D. J. The amino acid, mineral and fatty acid content of three species of human plant foods in Cameroun. *Food*, v. 4, p. 1–6, 2010.
- GOULA, A.M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. *J. Food Engin.*, v.117, p.492–498, 2013.
- GUIMARÃES, R. C. A.; MACEDO, M. L. R.; MUNHOZ, C. L.; FILIU, W.; VIANA, L. H.; NOZAKI, V. T.; HIANE, P. A. Sesame and flaxseed oil: nutritional quality and effects on serum lipids and glucose in rats. *F. Scien. Techn.*, v. 33, p. 209–217, 2012.
- HARGRAVE, K. M.; AZAIN, M. J.; MINER, J. L. Dietary coconut oil increases conjugated linoleic acid-induced body fat loss in mice independent of essential fatty acid deficiency. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 1737, p. 52–60, 2005.
- IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. São Paulo, 2008.
- IXTAINA, V.Y.; MARTÍNEZ, M.L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C.M.; MAESTRI, D.M.; DIEHL, B.W.K.; NOLASCO, S.M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *J. F. Comp. Anal.*, v. 24, p. 166–174, 2011.
- LI, T., QU, X., ZHANG, Q., WANG, Z. Ultrasound-assisted extraction and profile characteristics of seed oil from *Isatis indigotica* Fort. *Ind. C. Prod.*, v. 35, p. 98–104, 2012.
- MARTÍNEZ, M.L.; MARÍN, M.A.; FALLER, C.M.S.; REVOL, J.; PENCI, M.C.; RIBOTTA, P. D. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. *LWT – F. Scien. Techn.*, v. 47, p. 78–82, 2012.
- MARUYAMA, S.A.; PALOMBINI, S.V.; CLAUS, T.; CARBONERA, F.; MONTANHER, P.F.; SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J.V.; GOMES, S.T.M.; MATSUSHITA, M. Application of box-

behnken design to the study of fatty acids and antioxidant activity from enriched white bread. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 24, p. 1520-1529, 2013.

MATSUSHITA, M.; MARTINS JÚNIOR, A. C.; GOMES, S. T. M.; MACEDO, F. A. F.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E. Influence of slaughter weight on the proximate composition and fatty acid profile of feedlot-fattened lamb meat. *Acta Scien. Techn.*, v. 32, p. 315-318, 2010.

OLIVEIRA, R.C.; BARROS, S.T.D.; GIMENES, M.L. The extraction of passion fruit oil with green solvents. *J.Food Eng.*, v. 117, pp.458-463, 2013.

PATIST, A.; BATES, D. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innov. F. Scien. Emerg. Technol.*, v.9, p.147-154, 2008.

PIZARRO, P.L.; ALMEIDA, E.L.; SAMMÁN, N.C.; CHANG, Y.K. Evaluation of whole chia (*Salvia hispânica* L.) flour and hydrogenated vegetable fat in pound cake. *F. Scien. Techn.*, v.54, p.73-79, 2013.

PRADO, A. G. S. Química Verde, Os Desafios da Química do Novo Milênio. *Quím. Nova*, v.26, p.738-744, 2003.

RAMOS-FILHO, M. M.; RAMOS, M. I. L.; HIANE, P. A.; SOUZA, E. M. T. Lipid profile of four species of fish from the pantanal region of Mato Grosso do Sul. *Ciênc. Tecn. de Alim.*, v. 28, p. 361-365, 2008.

TIAN, Y.; XU, Z.; ZHENG, B.; LO, Y.M. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Ultra. Sonochem.*, v. 20, p. 202–208, 2013.

VILKHU, K.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; BATES, D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review. *Innov. F. Scien. Emerg. Technol.*, v. 9, p. 161–169, 2008.

WALKER, R. E. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society (Method AOCS Ce 2-66)*. Champaign: American Oil Chemists Society, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Joint Consultation: fats and oils in human nutrition. *Nutri. Rev.*, v. 53, p. 202-205, 1995.