



ESTUDO DE PARÂMETROS CINÉTICOS E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO SOLÚVEL DA TORTA DE SEMENTE DE ROMÃ PARA AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS COM POTENCIAL BIOATIVO

Amanda Lima de Mello
Camila Lois Oreiro Ferreira
Livia Santana de Arruda

Projeto de Final de Curso

Orientadores
Suely Pereira Freitas, D.Sc.
Nina Katia da Silva, M.Sc.

Agosto de 2014

*Amanda Lima de Mello
Camila Lois Oreiro Ferreira
Livia Santana de Arruda*

**ESTUDO DE PARÂMETROS CINÉTICOS E
CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO SOLÚVEL DA TORTA DE
SEMENTE DE ROMÃ PARA AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS
COM POTENCIAL BIOATIVO**

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheira Química, e Engenheira de Alimentos, respectivamente.

Orientadores: Suely Pereira Freitas, D.Sc.
Nina Katia da Silva, M.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil
Agosto de 2014

Mello, Amanda Lima; Ferreira, Camila Lois Oreiro; Arruda, Livia Santana.

Estudo de parâmetros cinéticos e caracterização de extrato solúvel da torta de semente de romã para avaliação de composto com potencial bioativo/Amanda Lima de Mello; Camila Lois Oreiro Ferreira; Livia Santana de Arruda.
Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2014.
xii, 53 p.; il.
(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2014.

Orientadores: Suely Pereira Freitas e Nina Katia Silva

1. Romã. 2. Extração. 3. Fibras. 4. Compostos com potencial bioativo. 5. Projeto Final. (Graduação – UFRJ/EQ). 6. Suely Pereira Freitas e Nina Katia da Silva.

ESTUDO DE PARÂMETROS CINÉTICOS E CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO SOLÚVEL DA TORTA DE SEMENTE DE ROMÃ PARA AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS COM POTENCIAL BIOATIVO

***Amanda Lima de Mello
Camila Lois Oreiro Ferreira
Livia Santana de Arruda***

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheira Química, e Engenheira de Alimentos, respectivamente.

Aprovado por:

Lauro Luís Martins Medeiros de Melo, D.Sc.

Regina Isabel Nogueira, D.Sc.

Ana Paula Gil Cruz, D.Sc.

Orientadores:

Suely Pereira Freitas, D.Sc.

Nina Katia da Silva, M.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil
Agosto de 2014

“Seja um estudante, não um seguidor. Não vá simplesmente fazer o que alguém diz.
Tenha interesse pelo que alguém diz, então debata, pondere e considere de todos
os ângulos.”

Jim Rohn

AGRADECIMENTOS

Primeiro agradecemos a Deus, pois sem Ele nada teria sido possível.

Aos nossos pais e irmãos, que nos apoiaram em todos os momentos da nossa vida e continuaram acreditando em nós mesmo quando nós não acreditávamos mais.

Aos nossos familiares pelo apoio incondicional e por entenderem todas as nossas ausências, que não foram poucas, ao longo de todos esses anos.

Eu, Amanda Mello, agradeço a todos os meus amigos, aqueles que me acompanharam desde o início e aqueles que surgiram no meio do caminho e foram indispensáveis para a conclusão dessa jornada. Em especial a Livia e a Camila por dividirem esse projeto comigo e por todo apoio e suporte que me deram.

Eu, Camila Lois, agradeço em especial aos meus amigos de faculdade, pelo companheirismo ao longo dessa jornada. Aos meus amigos de longa data, por compreenderem minha ausência nos últimos anos. Ao pessoal do CENPES, pela oportunidade, aprendizado e pelas amizades conquistadas ao longo do período de estágio.

Eu, Livia Santana, agradeço a todos os meus amigos que acompanharam essa jornada enlouquecedora e deliciosa, no dia a dia da UFRJ ou à distância, e que nunca me deixaram parar de acreditar que eu estava no caminho certo. Em especial, agradeço a Amanda Mello e a Camila Lois por terem acreditado nesse trabalho e se esforçado para que ele fosse realizado.

Agradecemos também a todos os professores pela dedicação em transmitirem seus conhecimentos e por buscarem o nosso melhor potencial enquanto profissionais.

Um agradecimento mais que especial as nossas orientadoras Nina Katia, que não poupou esforços em nos ajudar ao longo deste projeto e por passar todo seu conhecimento sobre a romã e nos auxiliar na utilização da prensa, e a Professora Suely Freitas que sempre esteve disponível para nos dar suporte da melhor maneira possível em cada detalhe deste trabalho.

Ao Laboratório de Processamento de Óleos Vegetais –EQ/UFRJ, onde este trabalho foi desenvolvido.

Ao Professor Márcio Nele de Souza por ter disponibilizado a centrífuga para as análises e a doutoranda Monique Lombardo por todo o auxílio, paciência e conversas ao longo deste projeto.

Ao Laboratório Bioetanol coordenado pela Professora Elba Pinto da Silva Bon, por ceder as enzimas e pela realização das análises de compostos fenólicos e açúcares redutores e, a Ana Paula Gil Cruz por compartilhar seus conhecimentos com toda a paciência durante as análises citadas.

Além destes, gostaríamos de agradecer a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este projeto final de curso pudesse ser escrito.

A todos, o nosso muito obrigada!

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química, como parte dos requisitos necessários para a obtenção de grau de engenharia química e engenharia de alimentos.

A indústria de processamento de frutos produz ao longo de sua cadeia produtiva uma grande quantidade de resíduos agroindustriais que pode vir a ser de interesse ambiental, econômico e social. Atualmente estes resíduos são utilizados como adubo ou complemento proteico para rações. No entanto, resíduos do processamento de romã, possuem em sua composição vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes importantes para as funções fisiológicas. Para a extração desses compostos, comumente, são utilizados solventes orgânicos que podem ser tóxicos para o trabalhador e meio ambiente. Visando a utilização de solventes mais brandos, neste trabalho foram estudadas as melhores condições dos processos de extração aquosa, enzimática e hidroalcoólica para a obtenção de um extrato solúvel contendo açúcares, fibras e outros compostos com potencial bioativo. Inicialmente estudou-se a cinética de secagem das sementes que apresentou um bom ajuste à 2ª Lei de Fick, estimando-se, a partir deste modelo, um coeficiente de difusão igual a $1,26 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. A torta obtida após a prensagem das sementes apresentou distribuição granulométrica bimodal com diâmetro médio de Sauter igual a $5,93 \mu\text{m}$. Para o estudo da etapa de extração utilizou-se delineamento experimental de dois níveis e três fatores, que confirmou a influência da razão solvente/soluto, granulometria das partículas e temperatura na eficiência da extração. Definidos os melhores parâmetros para cada extração, todas as curvas cinéticas apresentaram um bom ajuste pela 2ª Lei de Fick. Neste caso, os coeficientes de difusão estimados foram $2,96 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração aquosa, $3,54 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração enzimática e $6,26 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração hidroalcoólica. Os extratos obtidos apresentaram índices de refração semelhantes e as quantidades de compostos fenólicos totais obtidas foram de $30,37 \pm 0,88 \text{ mg ácido Gálico} \cdot 100\text{g}^{-1}$, $29,05 \pm 0,26 \text{ mg ácido Gálico} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $28,18 \pm 1,31 \text{ mg ácido Gálico} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para os extratos aquoso, enzimático e hidroalcoólico, respectivamente. Para os açúcares redutores, os valores obtidos foram, respectivamente, $3,02 \pm 0,13 \text{ g.glicose} \cdot \text{L}^{-1}$, $3,16 \pm 0,11 \text{ g.glicose} \cdot \text{L}^{-1}$ e $1,50 \pm 0,06 \text{ g.glicose} \cdot \text{L}^{-1}$.

Abstract of Final Project presented to the Escola de Química as part of the requirements for obtaining the degree of chemical engineering and food engineering.

The fruit processing industry produces through its supply chain a lot of agro-industrial waste and that might be environmentally, economically and socially interesting. Currently, these residues are used as fertilizer or food supplement for animals. However, residues from pomegranate processing have vitamins, minerals, fibers and antioxidants compounds important for physiological functions. Generally, organic solvents are used to extract these compounds. However, they can be toxic to workers and the environment. In order to use milder organic solvents, in this work the best conditions of the aqueous, enzymatic and hydroalcoholic extraction were studied to obtain a soluble extract containing sugar, fibers and other compounds with bioactive potential. Initially we studied the kinetics of drying of seeds, which showed a good fit to 2nd Fick's law, estimating, from this model, a diffusion coefficient of $1.26 \times 10^{-11} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$. The press cake obtained after seeds pressing showed bimodal particle size distribution with Sauter's diameter of 5.93 micrometers. To study the extraction, we used an experimental design with two levels and three factors, which confirmed the influence of the solvent/solute ratio, particle size and temperature on the extraction efficiency. Set the optimal parameters for each extraction, all the kinetic curves showed a good fit for 2nd Fick's law. In this case the diffusion coefficients estimated were $2.96 \times 10^{-12} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ for aqueous extraction, $3.54 \times 10^{-12} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ for enzymatic extraction and $6.26 \times 10^{-12} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ for hydroalcoholic extraction. The extracts showed similar refractive indices and the amount of phenolic compounds obtained were $30.37 \pm 0.88 \text{ mg Gallic acid.100g}^{-1}$, $29.05 \pm 0.26 \text{ mg.Gallic acid.100g}^{-1}$ and $28.18 \pm 1.31 \text{ mg Gallic acid.100g}^{-1}$ for the aqueous, hydroalcoholic and enzyme extracts, respectively. For reducing sugars, the values were, respectively, $3.02 \pm 0.13 \text{ g.glicose.L}^{-1}$, $3.16 \pm 0.11 \text{ g.glicose.L}^{-1}$ and $1.50 \pm 0.06 \text{ g.glicose.L}^{-1}$.

Índice

Capítulo I: Introdução	1
Capítulo II: Objetivos	3
II.1. Objetivo Geral.....	3
II.2. Objetivos Específicos	3
Capítulo III: Revisão Bibliográfica	4
III.1. Produção de Frutas	4
III.2. Romã.....	8
III.3. Aproveitamento de Resíduo da Agroindústria.....	11
III.4. Fibras Alimentares.....	12
III.5. Compostos Antioxidantes	13
III.6. Compostos fenólicos	14
III.7. Transferência de Massa por Difusão	15
III.8. Secagem	17
III.9. Extração sólido-líquido.....	17
III.10. Planejamento Experimental.....	18
III.11. Análise de caracterização dos compostos bioativos.....	19
III.11.1. Fenólicos Totais.....	19
III.11.2. Açúcares Redutores por DNS	20
Capítulo IV: Materiais e Métodos	21
IV.1. Matéria Prima.....	21
IV.1.1. Romã	21
IV.2. Obtenção da Torta	22
IV.2.1. Secagem.....	22
IV.2.2. Prensagem.....	23
IV.3. Caracterização da torta	23
IV.3.1. Quantificação de matéria seca	23
IV.4. Granulometria	24
IV.5. Teor de óleo.....	25
IV.6. Obtenção do extrato.....	25
IV.6.1. Estudo dos parâmetros que influenciam a extração.....	25
IV.7. Determinação dos parâmetros cinéticos da extração	27
IV.8. Obtenção dos extratos nas condições ótimas	28

IV.9. Caracterização dos Extratos	28
IV.9.1. Teor de Sólidos Solúveis	28
IV.9.1. Fenólicos Totais por Follin-Ciocalteau	28
IV.9.1. Açúcares redutores por DNS	29
Capítulo V: Resultados e Discussão	30
V.1. Curva de secagem da semente e coeficiente de difusão	30
V.2. Caracterização da torta	34
V.2.1. Umidade e teor de óleo residual	34
V.2.2. Granulometria.....	35
V.3. Estudo dos parâmetros que influenciam a extração	36
V.4. Curva de extração e coeficiente de difusão.....	38
V.5. Caracterização dos Extratos	41
V.5.1. Aspecto visual e teor de sólidos solúveis.....	41
V.5.2. Quantificação de compostos fenólicos e açúcares redutores.....	42
Capítulo VI: Conclusão	44
Capítulo VII. Sugestões para trabalhos futuros	45
Capítulo VIII: Bibliografia	46
Apêndice	51
Apêndice A. Resultados estatísticos obtidos pelos softwares Design-Expert 7.0.0 e STATISTICA 10.0.....	51
Apêndice A.1: Valores obtidos para o ajuste do modelo não-linear da 2° lei de Fick com n=3, para a curva cinética de secagem das sementes de romã e parâmetro “a”.....	51
Apêndice A.2: Comparação entre os valores previstos e obtidos durante o delineamento experimental de 2 níveis e 3 fatores.....	52
Apêndice A.3: Valores obtidos para o ajuste do modelo não-linear da 2° lei de Fick com n=3, para as curvas cinéticas das extrações aquosa, enzimática e hidroalcoólica e os respectivos parâmetros “a”.....	53

Índice de Figuras

Figura III. 1:Produção mundial de frutas por ano. Fonte: FAO, 2010; Elaboração DERAL, 2012.....	5
Figura III. 2:Evolução da produção brasileira de frutas entre 2004 e 2010. Fonte: IBRAF/IBGE, 2012.....	6
Figura III. 3:Evolução da balança comercial de frutas frescas. Fonte: BRASIL, 2011.	7
Figura III. 4:Romã. Fonte: Wikipédia.	8
Figura III. 5:Representação esquemática da mistura de duas substâncias por difusão. Fonte: Wikipédia.....	15
Figura III. 6:Esquema das reações envolvidas no método DNS. Fonte: Maldonade, 2013.	20
Figura IV. 1:Diagrama de blocos simplificado do processamento da romã em escala piloto. Fonte: Adaptado de SILVA, 2013.....	22
Figura IV. 2:Estufa com circulação de ar NOVA ETICA.	24
Figura IV. 3:Banho Dubnoff	27
Figura V. 1:Curva cinética de secagem da semente de romã	31
Figura V. 2:Curva cinética de secagem da semente, para a 2ª Lei de Fick com $n=3$, ajustada pelo modelo não linear.....	33
Figura V. 3:Histograma da distribuição granulométrica da torta de semente de romã.	36
Figura V. 4:Diagrama de Pareto da variável “eficiência de extração”. A:temperatura, B:razão solvente/soluto e C:granulometria	37
Figura V. 5:Curvas cinéticas das extrações aquosa, enzimática e hidroalcoólica. ...	38
Figura V. 6:Curvas cinéticas das extrações aquosa, enzimática e hidroalcoólica para a 2ª Lei de Fick com $n=3$ ajustada pelo modelo não linear.....	40
Figura V. 7:Aspecto visual dos extratos obtidos.	41

Índice de Tabelas

Tabela III. 1: Principais produtores mundiais de frutas em 2010.	4
Tabela III. 2: Principais estados produtores de frutas.....	6
Tabela III. 3: Características da Romã.	9
Tabela III. 4: Composição Química das sementes de Romã.....	10
Tabela IV. 1: Tamanho da abertura do conjunto de peneiras.....	24
Tabela IV. 2: Variáveis do planejamento fatorial 2^3 - composto central.....	26
Tabela VI. 1: Dados de umidade adimensional x tempo.....	32
Tabela V. 2: Teor de umidade e de óleo das sementes antes da prensagem e da torta após a prensagem.....	34
Tabela V. 3: Distribuição granulométrica da torta	35
Tabela V. 4: Índice de refração dos extratos obtidos.....	42
Tabela V. 5: Resultados da quantificação de compostos fenólicos totais e açúcares redutores.	42

Capítulo I: Introdução

A oferta e a demanda de frutas têm crescido nos últimos anos devido à mudança dos hábitos alimentares, cada vez mais saudáveis, e ao aumento da renda das famílias brasileiras. No ranking dos principais produtores mundiais de frutas, o Brasil ocupa a terceira posição. Essa posição pode ser explicada devido ao fato de que o país, por ser muito extenso, possui diferentes tipos de climas e ecossistemas, o que lhe permite a produção de uma grande variedade de frutas (CORRÊA et al., 2008).

A partir de 2008, devido à alta valorização da nossa moeda e a abertura comercial, ocorreu um aumento significativo das importações (IBRAF, 2013), sendo que a pêra, pêssego, nectarina, ameixa e damasco, maçã, uva, kiwi e citros representam quase a totalidade das frutas frescas importadas pelo Brasil. Em pequena proporção, o Brasil compra também cereja, caqui, mirtilo, morango, framboesa, romã, entre outras (VIANA; JULIAO, 2013).

Há um grande interesse na romã por parte dos pesquisadores de produtos funcionais devido aos seus múltiplos compostos bioativos, com efeitos antioxidantes, antivirais, antibacterianos, antifúngicos, entre outros já comprovados (NOGUEIRA et al., 2011).

A geração de resíduos é inerente a qualquer setor produtivo e frequentemente proporciona sérios problemas de poluição no solo, em águas superficiais e subterrâneas. Sabe-se que os principais resíduos gerados no processamento de polpas de frutas são casca, caroço ou sementes e bagaço. Esses contêm ainda vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes, importantes para as funções fisiológicas. Tais resíduos podem então ser utilizados gerando uma nova fonte de produtos naturais (SOUSA et al., 2011).

Para a obtenção desses compostos faz-se necessário o uso de solventes, na maioria das vezes não renováveis, que podem ser prejudiciais à saúde do trabalhador. Desta forma, solventes menos agressivos e mais “amigáveis ao meio ambiente”, como etanol e água, serão avaliados neste trabalho.

Além disso, o conhecimento de parâmetros cinéticos dos processos envolvidos possibilita a otimização dos mesmos, diminuindo o uso de recursos energéticos e gerando menos resíduos. Seguindo essa tendência, este trabalho analisou parâmetros cinéticos das etapas de secagem e extração sólido-líquido

usando-se diferentes solventes para obtenção de fibras solúveis e compostos com potencial bioativo a partir da torta de semente de romã, obtida na extração do óleo.

Capítulo II: Objetivos

II.1. Objetivo Geral

Utilizar a torta de semente de romã, obtida como coproduto da extração do óleo, visando à obtenção de um extrato solúvel contendo açúcares, fibras e compostos com potencial bioativo para a formulação industrial de alimentos e cosméticos e, simultaneamente, reduzir os impactos ambientais causados pelo setor alimentício.

II.2. Objetivos Específicos

- Determinar os parâmetros cinéticos do processo de secagem das sementes de romã, etapa anterior à extração do óleo por prensagem a frio.
- Selecionar os parâmetros com maior influência no rendimento do processo, por meio de um delineamento experimental, de forma a maximizar a obtenção do extrato solúvel.
- Determinar as melhores condições experimentais para a extração em meio aquoso, enzimático e hidroalcoólico, e determinar seus parâmetros cinéticos.
- Quantificar os açúcares e compostos fenólicos presentes nos extratos obtidos.

Capítulo III: Revisão Bibliográfica

III.1. Produção de Frutas

Segundo o Departamento de Economia Rural (2012), a produção de frutas no mundo vem apresentando um crescimento contínuo. O Brasil ocupa o terceiro lugar no ranking, com uma produção de 41,5 milhões de toneladas, que corresponde a 5,7% do volume total, sendo superado apenas pela China e Índia. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, apresenta-se os principais produtores mundiais de frutas em 2010, e na

Figura III. 1: *Produção mundial de frutas por ano. Fonte: FAO, 2010; Elaboração DERAL, 2012.*

ilustra-se o crescimento contínuo da produção de frutas entre 2001 e 2010.

Tabela III. 1: Principais produtores mundiais de frutas em 2010.

Países	Área (ha)	Produção (t)	Produção(%)
China	13.299.094	190.161.340	26,1
Índia	6.948.950	86.038.600	11,8
Brasil	2.548.730	41.522.181	5,7
Estados Unidos	1.235.325	28.250.377	3,9
Turquia	1.337.623	19.240.404	2,6
Itália	1.317.653	18.052.136	2,5
Irã	1.293.834	16.910.521	2,3
Espanha	1.609.160	16.893.520	2,3
México	1.277.845	16.854.079	2,3
Filipinas	1.163.632	16.302.821	2,2
Demais Países	27.762.043	278.216.372	38,2
Total	59.793.889	728.442.351	100

Fonte: FAO, 2010; Elaboração DERAL, 2012.

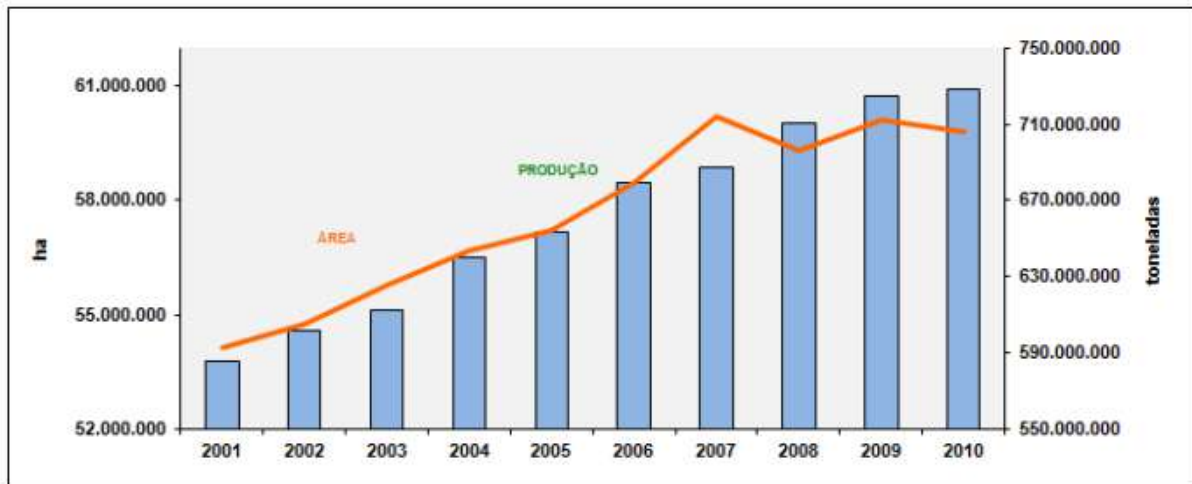


Figura III. 1: Produção mundial de frutas por ano. Fonte: FAO, 2010; Elaboração DERAL, 2012.

O Brasil é um país muito extenso, possuindo diferentes tipos de climas e ecossistemas, o que permite a produção de uma grande variedade de frutas (CORRÊA et al., 2008), sendo laranja, banana, uva, e maçãs as frutas mais produzidas no país (BRASIL, 2013). Além disso, o investimento em sistemas de irrigação fez com que a produção de frutas no nordeste aumentasse, e a região tem produzido frutas tropicais, subtropicais e, até mesmo, frutas temperadas, onde se substitui a dormência pelo frio pela dormência pela seca (CORRÊA et al., 2008). Porém, segundo dados do IBGE de 2011, cerca de 70% da produção de frutas brasileira ainda concentra-se em apenas 5 estados brasileiros, sendo São Paulo o responsável por 42% da produção (ADECE, 2013).

A projeção do agronegócio de 2012/2013 a 2022/2023, feita pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, estima que a produção nacional de laranja deve manter um aumento estável em 1,7% ao ano, com aumento de 1,0% ao ano da área plantada e, juntas, a banana, maçã e uva devem aumentar em 19,8% sua produção até 2023 (BRASIL, 2013).

A seguir, mostra-se na

Figura III. 2: a evolução da produção brasileira de frutas entre 2004 e 2010, e na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** os principais estados brasileiros produtores de frutas e suas respectivas produções em 2011. A produção vem aumentando graças ao investimento de órgãos públicos e privados em tecnologia e estrutura, promovendo o desenvolvimento da agroindústria no processamento das

frutas (CARVALHO; MIRANDA, 2009).

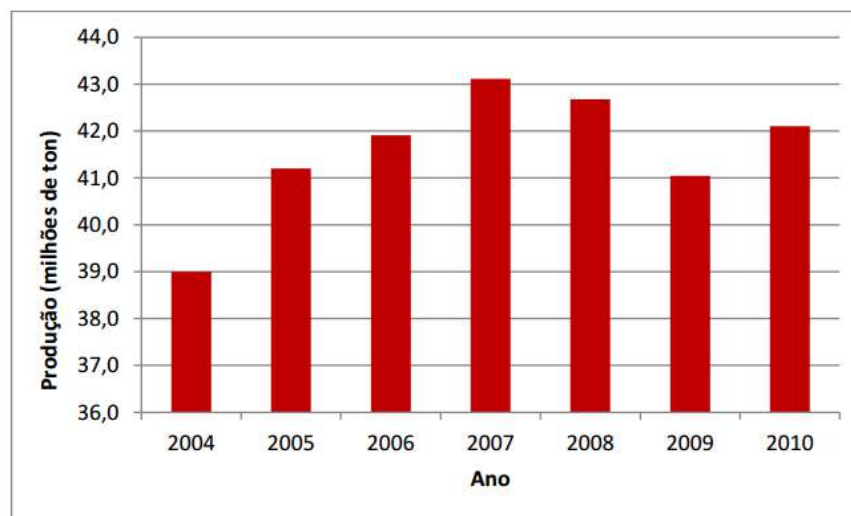


Figura III. 2: Evolução da produção brasileira de frutas entre 2004 e 2010. Fonte: IBRAF/IBGE, 2012.

Tabela III. 2: Principais estados produtores de frutas

PRINCIPAIS ESTADOS	PRODUÇÃO (t)	% /BR
São Paulo	20.003.523	42,00%
Bahia	5.568.065	11,70%
Rio Grande do Sul	2.836.321	6,00%
Ceará	2.496.051	5,20%
Minas Gerais	2.430.516	5,10%
Paraná	1.602.222	3,40%
Santa Catarina	1.591.276	3,30%
Pará	1.542.198	3,20%
Pernambuco	1.449.284	3,00%
Rio Grande do Norte	1.329.707	2,80%
Outros	2.459.692	5,20%
Brasil	47.599.441	100,00%

Fonte: IBGE, 2011. Elaboração ADECE, 2013.

No Brasil, o mercado interno consome a maior parte da safra, sendo que 47% do que é produzido é consumido in natura e os 53% restantes são processados. A maior parte dos frutos processados é utilizada para a produção de suco concentrado, principalmente de laranja. Isso faz com que o Brasil ocupe a 15ª posição no ranking mundial dos exportadores de frutas e derivados, exportando apenas 2% das frutas in natura e 29% do total processado (CORRÊA et al., 2008),

sendo Holanda, Reino Unido, Espanha, Estados Unidos e Alemanha os principais destinos dessas exportações (IBRAF, 2013).

A oferta e a demanda de frutas têm crescido nos últimos anos. Isso se deve à busca por hábitos alimentares melhores e ao aumento de renda das famílias brasileiras. Essa mudança pode ser observada na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, que ilustra a exportação, importação e o saldo final do comércio de frutas no período entre 1997 e 2010 (BRASIL, 2011).

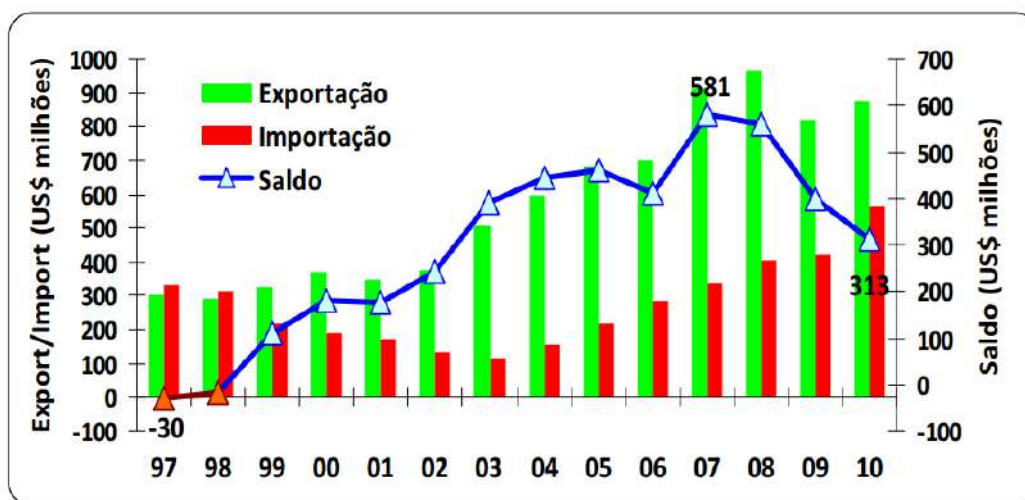


Figura III. 3: Evolução da balança comercial de frutas frescas. Fonte: BRASIL2011.

No período de 1998 a 2008 observa-se uma evolução consistente a favor das exportações, e a seguir até 2010 uma queda no saldo da balança. Este último período aponta um aumento significativo das importações, que ocorreu devido à alta valorização da nossa moeda e a abertura comercial, o que dificultou as exportações, mas, por outro lado, favoreceu as importações, caracterizando um aquecimento do mercado interno (IBRAF, 2013).

Dentre os países parceiros comerciais do Brasil, o principal fornecedor é a Argentina que, no triênio de 2010-2012, recebeu 42% do valor gasto pelo Brasil com importações de frutas frescas, seguida do Chile e da Espanha. Pêra, frutas de caroço (pêssego, nectarina, ameixa e damasco), maçã, uva, kiwi e cítricos representam quase a totalidade das frutas frescas importadas pelo Brasil. Em pequena proporção, o Brasil compra também cereja, caqui, mirtilo, morango, framboesa, romã, entre outras (VIANA; JULIAO, 2013).

O Brasil importa romãs produzidas pelos EUA, Israel e Irã, e agora algumas plantações estão sendo introduzidas nas áreas irrigadas do semiárido brasileiro, mas a produção ainda não foi quantificada (NOGUEIRA et al., 2012). A Embrapa desenvolve pesquisa com diferentes variedades de romã para verificar a sua capacidade de adaptação em solo brasileiro, com o objetivo de encontrar uma nova opção de cultivo para os produtores da região (OLIVEIRA et al., 2012).

Há um grande interesse na romã por parte dos pesquisadores devido aos seus múltiplos compostos bioativos, com efeitos antioxidantes, antivirais, antibacterianos e antifúngicos, entre outros já comprovados (NOGUEIRA et al., 2011).

III.2. Romã

A romãzeira, cientificamente chamada de *Punica granatum*, teve origem no Irã, mas também pode ser encontrada em suas formas selvagens na Índia, Afeganistão e Síria. Pode ser cultivada desde o nível do mar até 1600 m de altitude, é uma planta bem resistente, que prefere verões quentes e secos e invernos frios, mas também responde com um bom crescimento em condições irrigadas (MINISTRY OF COMMERCE, 2007). É uma árvore de pequeno porte, de 4 a 6 m de altura, tem um crescimento de médio a rápido e uma longevidade média (CAMARA MUNICIPAL DE LEIRIA, [s.d.]).

O seu fruto, a romã (representado na

Figura III.4:4), cientificamente chamado de *Punica granatum Linn*, é esférico, medindo de 5 a 12 cm, com casca coriácea e grossa, amarelada, acastanhada ou avermelhada, o seu interior é composto de muitas sementes agrupadas e envolvidas por um tegumento polposo avermelhado e comestível (CAMARA MUNICIPAL DE LEIRIA, [s.d.]). A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** apresenta as características da romã.



Figura III.4: Romã. Fonte: Wikipédia.

Tabela III. 3: Características da Romã.

Características	Valores
Peso médio da fruta	284g
Tamanho médio	313 cm ³
Massa específica	0,91 g.cm ⁻³
Cascas	38% do peso da fruta
Lamela interna	10% do peso da fruta
Partes comestíveis	52% do peso da fruta
Suco	78% das partes comestíveis
Sementes	22% das partes comestíveis

Fonte: Adaptado de EL-NEMR; ISMAIL; RAGAB, 1990.

A romã foi introduzida muito cedo nos países mediterrânicos e orientais, mas na Europa chegou através da Espanha somente depois da influência islâmica no país, e na Inglaterra somente no século XIII. Foi introduzida na América quando os espanhóis a levaram para o México e para a Flórida. Seu cultivo gradualmente se espalhou para outros países, e agora ela é cultivada em quase todos os países de clima tropical e subtropical (MINISTRY OF COMMERCE, 2007).

A romãzeira tem grande importância econômica, pode ser usada na indústria de tintas e couro, além do consumo in natura e da produção de sucos (MINISTRY OF COMMERCE, 2007). Possui grandes propriedades terapêuticas, e estudos indicam um elevado potencial antioxidante, três vezes superior aos do vinho e do chá verde (CAMARA MUNICIPAL DE LEIRIA, [s.d.]).

Degáspari e Dutra (2011) registraram o crescente interesse nas pesquisas sobre as propriedades fitoterápicas da romã a partir de um *review* de artigos

publicados entre 2008 e 2010. Estes estudos abordam, principalmente, as propriedades medicinais, antimicrobianas, odontológicas, antifúngicas, antioxidantes, antineoplásticas e quimioprotetoras do fruto.

O suco da romã é de fácil digestão e contém cerca de 15% de açúcar invertido. É uma rica fonte de sódio, riboflavina, tiamina, niacina, vitamina C, cálcio e fósforo. Já os teores de proteína e gordura são desprezíveis (MINISTRY OF COMMERCE, 2007). A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** mostra a composição química das sementes de romã.

Tabela III. 4: Composição Química das sementes de Romã

Componentes	Valores (%)	Componentes Minerais	Valores (ppm)
Lipídios Totais	27,2	Ferro	1,3
Proteína Bruta	13,2	Cobre	1,2
Fibra Bruta	35,3	Sódio	6
Pectina	6	Magnésio	12,4
Açúcares Totais	4,7	Potássio	45,2
Açúcares Redutores	1,6	Zinco	1
Açúcares Não-redutores	3,1	Manganês	-
Cinza	2		

Fonte: Adaptado de EL-NEMR; ISMAIL; RAGAB, 1990

Devido aos benefícios para a saúde, ao aumento da popularidade nos mercados europeus e americanos e à oportunidade de utilizar diversas partes da romãzeira em diferentes ramos da indústria, essa cultura tem permitido que plantadores indianos substituam sua agricultura de subsistência por plantações de romã, diminuindo com isso os níveis de pobreza do país (MINISTRY OF COMMERCE, 2007).

A Índia é a maior produtora do mundo, com produção de cerca de 850 mil toneladas, mas participa de apenas 7% das exportações mundiais. O Irã produz aproximadamente 670 mil toneladas e é o maior exportador do mundo, já a Espanha é a maior exportadora para a União Europeia e produz cerca de 120 mil toneladas (MINISTRY OF COMMERCE, 2007).

A romã possui uma longa vida de prateleira, então não existem muitas restrições quanto à localização do plantio. Para os fornecedores de frutas frescas os

questos mais importantes são o tamanho e a cor (roxo, vermelho ou amarelo), e se a casca não possui manchas, pois isso determina o valor que o cliente está disposto a pagar. As frutas de cor amarela ou que não se encaixam em um dos questos acima são normalmente utilizadas para a produção de sucos e aromas (OTF GROUP, 2007).

III.3. Aproveitamento de Resíduo da Agroindústria

A geração de resíduos e subprodutos é inerente a qualquer setor produtivo e com o aumento da conscientização ecológica, o grande desafio da humanidade para as próximas décadas é equilibrar a produção de bens e serviços com o crescimento econômico, a igualdade social e a sustentabilidade ambiental.

O setor agroindustrial produz grandes quantidades de resíduos que podem apresentar problemas de disposição final, sendo potencialmente poluentes. No entanto, ao contrário do que acontecia no passado, quando resíduos eram dispostos em aterros sanitários ou empregados sem tratamento para ração animal ou adubo, os conceitos atuais de minimização, recuperação, aproveitamento de coprodutos e bioconversão de resíduos são cada vez mais difundidos e necessários para as cadeias agroindustriais (ROCHA, 2011).

A indústria de processamento de frutos, por exemplo, produz ao longo de sua cadeia produtiva uma grande quantidade de resíduos agroindustriais. Segundo Sena & Nunes (2006), calcula-se que entre 30 e 40% do total de frutas processadas na produção de sucos e polpas tornem-se resíduos agroindustriais.

Os principais resíduos gerados no processamento de polpas de frutas são casca, caroço ou sementes e bagaço. Esses resíduos possuem em sua composição vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes importantes para as funções fisiológicas. Tais resíduos podem então ser utilizados gerando uma nova fonte alimentar (SOUSA et al., 2011).

Elfalleh et al. (2011) comprovaram que a quantidade de antocianinas e taninos na casca da romã é maior que no suco e que a semente da romã contém grandes quantidades de tocoferóis. Viuda-Martos et al. (2012) consideraram o pó do bagaço de romã como um potencial ingrediente funcional devido à quantidade de fibras alimentares, que além de enriquecerem nutricionalmente outros alimentos, podem também melhorar suas propriedades tecnológicas.

Atualmente, o aproveitamento integral dos resíduos ocorre na utilização destes como ingredientes para a formulação de rações para animais (SENA; NUNES, 2006). No Brasil, o bagaço gerado no processamento de frutas é em geral restrito a aplicações como adubo e como fonte de energia em caldeiras, e as

empresas do setor de sucos, por falta de logística e tecnologia apropriada, pagam para a remoção do bagaço (SILVA et al., 2012).

A Embrapa Agroindústria de Alimentos tem prestado, nos últimos anos, uma contribuição considerável em estudos de alternativas para o aproveitamento de produtos e coprodutos do processamento de alimentos para dar utilidade e criar novos produtos ou tecnologias a partir do reaproveitamento de resíduos de processamento de alimentos visando o mercado, a conservação ambiental, diminuição das perdas e rejeitos e geração de renda (ROCHA, 2011).

III.4. Fibras Alimentares

As fibras constituem a parte estrutural das plantas e por isso são encontradas em todos os alimentos derivados delas, como hortaliças, frutas, grãos e leguminosas. Elas pertencem ao grupo dos carboidratos e são constituídas pela soma de polissacarídeos não amiláceos compostos por moléculas de açúcares e lignina que não são digeridos por enzimas digestivas de seres humanos. Por definição, são polímeros com mais de onze unidades de açúcares unidas por ligações glicosídicas. As cadeias laterais ou ramificações da estrutura básica são responsáveis pela solubilidade das fibras alimentares totais que podem ser divididas em fibras alimentares solúveis e fibras alimentares insolúveis. Essa classificação é importante visto que esses dois tipos de fibras apresentam ações distintas (MONTEIRO, 2005).

As fibras insolúveis são encontradas nos cereais (farelo de trigo, cereais matinais e pães integrais), frutas maduras e vegetais. A principal ação destas fibras é a intestinal. Devido à sua insolubilidade elas não são fermentadas pela flora intestinal, sendo pouco metabolizadas. Estas fibras permanecem praticamente intactas ao longo de todo o trato gastrointestinal. Elas diminuem o tempo de trânsito no intestino, aumentam o bolo fecal e diminuem a constipação. Sendo assim, possuem efeito positivo sobre males tais como hemorroidas e varizes (ANDERSON et al., 2009).

As fibras solúveis são encontradas em alimentos como: aveia, feijão, lentilha, ervilha, soja, frutas e verduras. Elas são capazes de aumentar o tempo de exposição dos nutrientes no estômago, proporcionando uma melhora na digestão dos mesmos,

em particular dos açúcares e das gorduras. Estas não são digeridas no estômago, mas sim no intestino, onde são expostas à flora bacteriana, que atua na fermentação. As fibras fermentadas convertem-se em nutrientes necessários para um melhor desenvolvimento das bactérias, aumentando favoravelmente a flora bacteriana. Um dos pontos cruciais dessa superpopulação bacteriana benéfica é a inibição do crescimento de bactérias patogênicas (ANDERSON et al., 2009)

Aproximadamente um terço das fibras alimentares totais ingeridas com uma dieta típica é solúvel. Tendo em vista seus benefícios para a promoção da saúde, o consumo de fibras alimentares tem sido incentivado nos últimos anos (FERREIRA, 2013).

Em geral, os resíduos derivados do processamento de frutas e vegetais contêm uma grande quantidade de fibras alimentares (Ishimoto *et al.*, 2007; Hervest-Hernández *et al.*, 2009 *apud* FERREIRA, 2013). Nesse tipo de resíduos, tal como a torta proveniente do processamento da semente de romã, as fibras apresentam uma melhor qualidade funcional quando comparadas àquelas presentes em resíduos provenientes do processamento de cereais. (GONZÁLEZ-CENTENO et al., 2010 *apud* FERREIRA, 2013).

III.5. Compostos Antioxidantes

Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica do nosso metabolismo e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. O excesso de radicais livres no organismo é combatido por antioxidantes produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Os antioxidantes atuam interagindo com os radicais livres antes que estes possam reagir com as moléculas biológicas, evitando que ocorram as reações em cadeia ou prevenindo a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (PEREIRA; VIDAL; CONSTANT, 2009).

Dentre os antioxidantes de baixo peso molecular provenientes da alimentação, os mais estudados são algumas vitaminas (E, C e A) e compostos fenólicos como carotenoides e flavonoides (Oliveira e Valentin, 2009 *apud* SILVA,

2013). A romã, além de ser fonte de carboidratos, minerais e fibras, também possui vários compostos bioativos, como vitamina C e alguns compostos fenólicos que são conhecidos como antioxidantes naturais. Estes antioxidantes naturais podem proteger as células contra estresse oxidativo e, conseqüentemente, reduzir o risco de doenças crônicas (ZAOUAY et al., 2012).

III.6. Compostos fenólicos

Compostos fenólicos ou polifenólicos são metabólicos secundários das plantas, essenciais para seu crescimento e reprodução. São produzidos como forma de defesa a patógenos e estresses em geral (KOBELITZ, 2008). Quimicamente, são compostos de estrutura simples, formados por um anel e grupamentos (em geral hidroxila) distribuídos em sua estrutura (YORDI et al., 2012). Os compostos fenólicos estão distribuídos por toda a planta de maneira não uniforme, nas formas livre ou esterificados a compostos solúveis ou insolúveis (JARDINI, 2010).

Esses compostos agem como antioxidantes devido à sua capacidade de doar um hidrogênio e devido à estabilidade dos seus radicais intermediários, inibindo assim a oxidação de outras moléculas de alimentos (FERREIRA, 2013). Também influenciam nos atributos de cor, aroma e adstringência dos alimentos, e embora não tenham influência direta nas características sensoriais, podem influenciar negativamente a qualidade dos frutos devido à oxidação enzimática natural dos frutos (JARDINI, 2010).

Flavonoides, taninos condensados e hidrolisáveis, são exemplos de polifenóis encontrados na romã. Além disso, podem ser encontrados ácidos fenólicos e orgânicos, esteróis, ácidos graxos, triglicérides e alcaloides (ELFALLEH et al., 2011).

O interesse nestes compostos deve-se à sua contribuição benéfica para a saúde atuando como antivirais, antiinflamatórios, antialérgicos e em doenças cancerígenas, neurológicas e gastrointestinais (FERREIRA, 2013).

III.7. Transferência de Massa por Difusão

O fenômeno de transferência de massa por difusão deve-se a diferença de potencial químico “como resultado de uma diferença de concentração das espécies no meio”. Portanto, quando existem regiões com concentrações diferentes, ocorre naturalmente uma transferência de massa no sentido das zonas onde a concentração desse componente é mais baixa (INCROPERA et al., 2007).

A **Erro! Fonte de referência não encontrada** é um desenho esquemático da transferência de massa por difusão, imaginando que a linha divisora é uma membrana, ao ser removida, ela permite o transporte das moléculas A para a direita e das moléculas B para a esquerda.

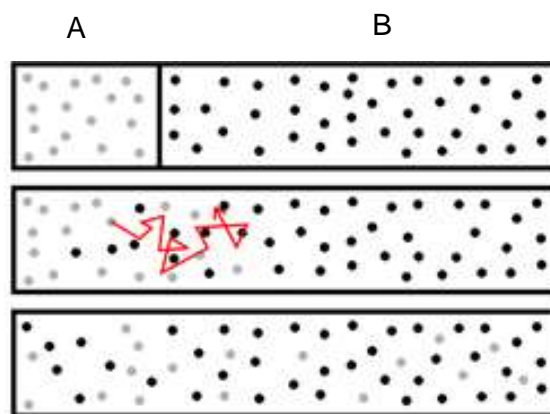


Figura III. 5: Representação esquemática da mistura de duas substâncias por difusão. Fonte: Wikipédia.

Em 1855, Adolf Eugen Fick, derivou uma lei quantitativa, na forma de equação diferencial, que descreve matematicamente diversos casos de difusão. Para soluções binárias, ideais, diluídas e em estado estacionário, a relação linear existente entre o fluxo difusivo do componente x, J_x , e o gradiente de concentrações desse componente, dC_x/dz , é dada pela 1ª Lei de Fick, representada na **Erro! Fonte de referência não encontrada**. (FERREIRA, 2013).

$$J_x = -D_x \frac{\partial C_x}{\partial x} \quad [\text{Eq.1}]$$

Quando o sistema está em estado transiente, a 1ª Lei de Fick não pode ser aplicada. Sendo assim ele propôs outra equação de conservação de massa que

relaciona a taxa de transferência de massa com o gradiente de concentração e essa equação ficou conhecida como 2ª Lei de Fick (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**) (PINHO; PRAZERES, 2008).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left[D_x \frac{\partial C}{\partial x} \right] \quad [\text{Eq.2}]$$

A constante de proporcionalidade D_x , presente em ambas as leis, representa a difusividade ou coeficiente de difusão, que indica a facilidade com que o componente é difundido no sistema e varia de acordo com o estado físico do sistema (PINHO; PRAZERES, 2008).

Assumindo a difusão de solutos como uma esfera rígida por um meio contínuo de solvente, a equação de Stokes-Einstein (Equação 3) permite uma estimativa do coeficiente de difusão com um erro aproximado de 20% (PINHO; PRAZERES, 2008).

$$D_x = \frac{kT}{f} \quad [\text{Eq.3}]$$

onde: f é o fator de atrito, T a temperatura e k a constante de Boltzmann.

No caso específico da difusão unidimensional em estado transiente, em sistemas de coordenadas cartesianas, a 2ª Lei de Fick pode ser escrita conforme a Equação 4 (INCROPERA et al., 2007).

$$\frac{\partial}{\partial x} \left(DC \frac{\partial X_a}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(DC \frac{\partial X_a}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(DC \frac{\partial X_a}{\partial z} \right) = \frac{\partial C}{\partial t} \quad [\text{Eq.4}]$$

Onde C é a concentração adimensional da solução.

Aplicando condições iniciais e de contorno obtém-se uma solução matemática da equação 4 em função do tempo do processo e do raio da esfera equivalente, o que permite, através dos valores dos dados experimentais, estimar o coeficiente efetivo de difusão.

Industrialmente esses fenômenos de transferência de massa se apresentam de diversas maneiras, como no caso da secagem e da extração sólido-líquido, que são objetos de estudo desse trabalho.

III.8. Secagem

A secagem é um processo termo-físico que consiste na remoção de água de um determinado produto (McCABE; SMITH; HARRIOT, 1985). É largamente usada para preservar alimentos, em particular frutas, uma vez que a redução do conteúdo de água diminui a atividade de água e, como consequência, desfavorece o crescimento microbiano e as modificações enzimáticas. Além disso, a remoção de água facilita o transporte e a estocagem e evita o uso da cadeia de frio (GUINÉ; RODRIGUES; FIGUEIREDO, 2007).

Por outro lado, características físicas, químicas e propriedades biológicas são alteradas durante os processos de secagem (AZZOUZ et al., 2002), que envolvem, simultaneamente, fenômenos de transferência de calor e massa ocorrendo no interior do material que está sendo seco (GUINÉ; FERNANDES, 2006).

Dentre os vários processos descritos na literatura para a secagem de alimentos, os modelos cinéticos de difusão, que descrevem a transferência de massa em regime não estacionário pela segunda lei de Fick, são os mais utilizados (GUINÉ; RODRIGUES; FIGUEIREDO, 2007). Porém, para grãos e sementes com formatos irregulares, a modelagem difusiva torna-se difícil e muitas contribuições acabam sendo empíricas ou adotam-se modelos de esfera com o mesmo volume do grão (GASTÓN; ABALONE; GINER, 2002). Desta forma é possível determinar a curva de secagem a partir de dados experimentais e estimar o coeficiente de difusão efetivo em função do tempo e da temperatura do processo.

III.9. Extração sólido-líquido

O processo de extração é uma operação de separação e/ou purificação muito comum a nível industrial (FERREIRA, 2013). A extração sólido-líquido, também conhecida como lixiviação, é largamente utilizada na indústria de alimentos para recuperar ou obter produtos desejados e para remover contaminantes indesejáveis (AZEVEDO, 1996).

Neste processo, o solvente (líquido) entra em contato com a matéria sólida (substrato) e o soluto de interesse é então transferido para o solvente. Esse processo pode ser feito em uma ou múltiplas etapas e depende de fatores como o soluto a ser extraído, o solvente utilizado, temperatura de extração, relação

solvente/substrato, pH, viscosidade, tamanho das partículas, tempo de extração, entre outros (FERREIRA, 2013).

A cinética de extração sólido-líquido por difusão tem sido estudada por vários pesquisadores que verificaram que o processo de extração por difusão pode ocorrer em duas etapas, a primeira na qual o soluto externo às células é removido rapidamente e uma segunda etapa, mais lenta, na qual ocorre a difusão do soluto do interior das células rompidas (AZEVEDO, 1996).

Diante disto, é possível o acompanhamento cinético da extração e o cálculo de seu parâmetro principal, o coeficiente de difusão.

III.10. Planejamento Experimental

O planejamento experimental é uma ferramenta utilizada para minimizar o número necessário de experimentos para otimizar os processos, tendo como base a análise estatística. Um bom planejamento consiste em projetar um experimento de forma que seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que se procura analisando os fatores e as respostas de interesse para o mesmo. Quando o interesse é maximizar ou minimizar algum tipo de resposta, utiliza-se a metodologia da superfície de resposta (BARROS, SCARMINIO E BRUNS, 2003).

Embora essa metodologia tenha sido proposta por Box na década de 50, um levantamento feito por Rodrigues e Lenna (2009) na base de dados *Food Science and Technology Abstracts* (FSTA), em setembro de 2009, mostrou que houve um aumento crescente e exponencial de artigos que utilizaram superfície de resposta entre 1970 e 2009, e que a utilização aumentou consideravelmente a partir da década de 80 com a evolução do microcomputador e a disponibilização de softwares estatísticos.

Barros, Scarminio e Bruns (2003), definiram a metodologia da superfície de resposta como sendo composta de duas etapas: modelagem e deslocamento. Enquanto a modelagem ajusta modelos lineares ou quadráticos a resultados experimentais obtidos de planejamentos experimentais, o deslocamento busca o caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, que é o caminho onde a resposta varia de forma mais pronunciada.

Entre os objetivos do planejamento experimental tem-se: a redução do número de experimentos ou repetições, reduzindo-se conseqüentemente o tempo e

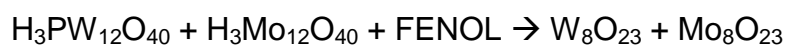
o custo final do projeto; o fato dos fatores serem analisados simultaneamente, considerando assim fatores sinérgicos e antagônicos; a possibilidade de avaliar mais de uma resposta ao mesmo tempo; e o fato dessa metodologia permitir o cálculo do erro experimental, o que é fundamental para especificar o nível de confiança estatística com o qual estima-se a reprodutibilidade do resultado desejado (RODRIGUES; LEMMA, 2009).

III.11. Análise de caracterização dos compostos bioativos

III.11.1. Fenólicos Totais

Os compostos fenólicos são subdivididos em subclasses como flavonoides, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas, estilbenos, ácido fenólico entre outros e muitos desses compostos possuem uma grande diversidade de estrutura que escapam da quantificação através de métodos como CLAE, subestimando o conteúdo total de compostos fenólicos presentes. Para minimizar os erros de medida, o método recomendado para a determinação total de fenólicos em alimentos é o de Follin-Ciocalteau (GEORGÉ et al., 2005).

O reagente de Follin-Ciocalteau é formado por uma mistura de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e de ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que após a oxidação pelos fenóis em meio alcalino, são reduzidos a óxidos de tungstênio (W_8O_{23}) e de molibdênio (Mo_8O_{23}), segundo a reação:



Estes compostos formados têm coloração azul e sua absorvância é medida na região de 760 nm. Esta é proporcional à quantidade total de compostos fenólicos originalmente presentes e é, geralmente, expressa em equivalente de ácido gálico (FOLLIN-CIOCALTEU INDEX, [s.d.]).

III.11.2. Açúcares Redutores por DNS

A glicose e a frutose, por terem seu carbono anomérico livre, o que os habilita a participarem de reações de óxido-redução como agentes redutores, são classificados como açúcares redutores. A detecção desses carboidratos é importante em diversos processos de produção de alimentos, como fermentações, processamento de frutas, processos de secagem de tubérculos, entre outros (DEOTI; SANTOS; ALVES JUNIOR, 2013).

O método colorimétrico mais utilizado para a detecção desses açúcares redutores utiliza o reagente DNS (ácido dinitrosalicílico), de cor amarela, que na reação com o açúcar redutor é reduzido a um composto colorido avermelhado (ácido 3-amino-5-nitrosalicílico) que pode ser detectado por espectrofotometria a 540 nm (MALDONADE; CARVALHO; FERREIRA, 2013).

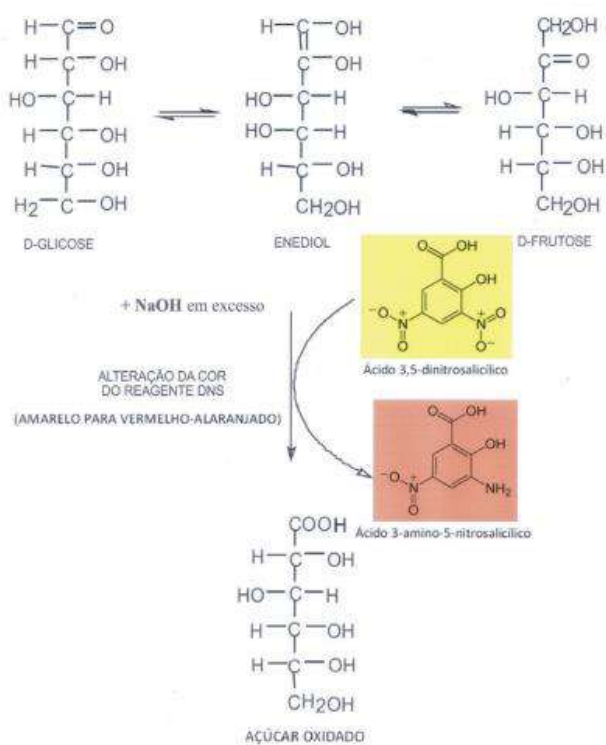


Figura III. 6: Esquema das reações envolvidas no método DNS. Fonte: Maldonade, 2013

Capítulo IV: Materiais e Métodos

IV.1. Matéria Prima

IV.1.1. Romã

As romãs utilizadas para o desenvolvimento desse trabalho são da variedade *wonderful* originários da Fazenda Boa Fruta, de Petrolina-PE, e foram pre-processados na planta piloto da Embrapa Agroindústria de Alimentos.

Os frutos recebidos foram selecionados e lavados em solução de cloro 100 ppm para limpeza e desinfecção. A seguir, foram manualmente cortados para remoção das cascas, ocorrendo então a separação dos arilos (sementes e polpa vermelha). Uma despulpadeira horizontal da marca Itametal, modelo Bonina 0,25 DF, foi utilizada para a obtenção do suco e do bagaço. O suco, as cascas e o bagaço foram armazenados em *pacs* de alumínio lacrados e mantidos em câmara fria (-20°C) para posterior processamento.

Os *pacs* contendo o bagaço foram descongelados para separação das sementes e estas foram, a seguir, secas em secador convectivo a 50 °C até peso constante e prensadas para a extração do óleo e obtenção da torta da prensagem, objeto de estudo deste trabalho.

A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** ilustra o diagrama de blocos simplificado do processamento da romã, do fruto até a obtenção da torta.

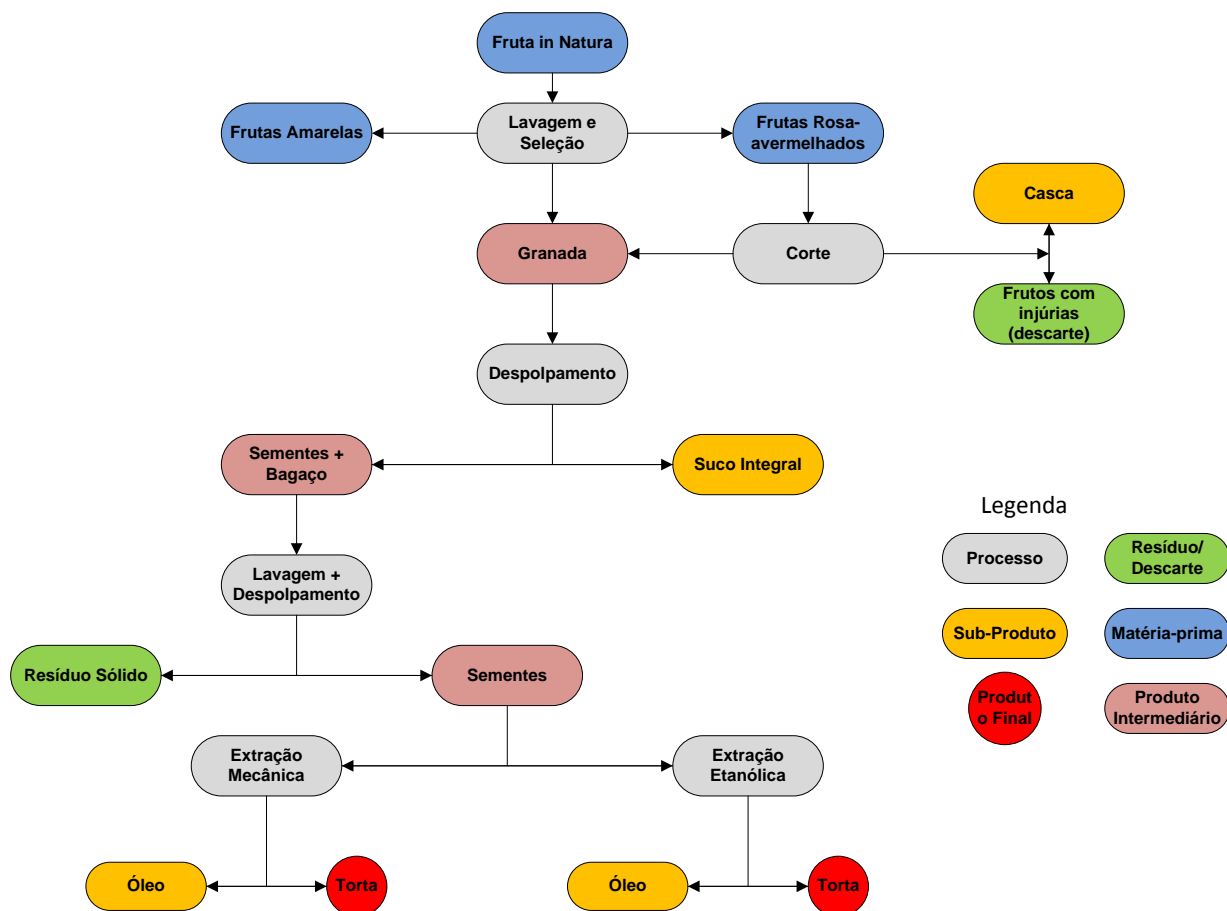


Figura IV. 1: Diagrama de blocos simplificado do processamento da romã em escala piloto. Fonte: Adaptado de SILVA, 2013.

IV.2. Obtenção da Torta

IV.2.1. Secagem

Após remoção do excesso de água as sementes descongeladas foram dispostas na bandeja e colocadas na secadora a 50 °C. A secagem foi conduzida por quatro horas e amostras de cada bandeja foram retiradas em intervalos de 1 hora para o acompanhamento da taxa de secagem. Atendida a umidade de equilíbrio, massa constante, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos fechados e armazenadas em freezer a -18°C.

IV.2.2. Prensagem

As sementes previamente secas foram retiradas do congelador e mantidas em temperatura ambiente até total descongelamento. As sementes foram alimentadas continuamente na prensa semipiloto do tipo parafuso sem fim modelo CA59G, da marca Oekotec - Alemanha. O óleo liberado foi recolhido em um *becher* e a torta em um recipiente plástico.

IV.3. Caracterização da torta

IV.3.1. Quantificação de matéria seca

A análise de quantificação de matéria seca foi utilizada neste trabalho tanto para a determinação da umidade inicial das sementes, antes do processamento e posterior caracterização da torta obtida, quanto para a quantificação dos compostos bioativos extraídos.

Todos os testes foram realizados em triplicata, utilizando-se o método de secagem direta em estufa a 105°C, segundo normas do laboratório Adolfo Lutz (2008) que têm como referência as normas padrões da AOAC (2000).

Para cada réplica cerca de 2 g da amostra úmida foram moídas, dispostas em vidros de relógio e aquecidas em estufa com circulação de ar NOVA ETICA (Figura IV.2) a 105°C até peso constante. Posteriormente, as amostras foram resfriadas em dessecador com sílica à temperatura ambiente e pesadas em balança de precisão.

O teor de umidade foi calculado de acordo com a equação 5.

$$U(\%) = \frac{Mu - Ms}{Mu} \cdot 100 \quad [\text{Eq. 5}]$$

onde:

Mu é a massa inicial da amostra úmida,

Ms a massa da amostra após a secagem.



Figura IV. 2: Estufa com circulação de ar NOVA ETICA.

IV.4. Granulometria

Para a análise granulométrica da torta obtida, esta foi pesada e colocada em um conjunto de peneiras vibratórias com cinco peneiras de tamanho de abertura decrescente, variando de 14 a 48 *mesh*, conforme a **Erro! Fonte de referência não encontrada.** O conjunto de peneiras com a amostra foi então tampado e colocado em equipamento vibratório por 15 minutos. As frações obtidas foram pesadas e classificadas conforme o tamanho em grosso, médio e fino.

Tabela IV. 1: Tamanho da abertura do conjunto de peneiras

Mesh	Abertura (mm)	Diâmetro (mm)
14	1,190	--
28	0,590	0,890
32	0,500	0,545
35	0,425	0,462
48	0,297	0,361
fundo	0	--

IV.5. Teor de óleo

O teor de óleo das sementes foi determinado em extrator de gordura com aquecimento, marca Quimis, utilizando-se éter de petróleo como solvente, conforme normas padrão AOCS (2004) especificadas no manual do fabricante. Cerca de 3g da torta moída foi colocada, em duplicata, em cartucho específico do extrator Soxhlet, e estes foram vedados com algodão. Adicionou-se 120 mL de éter de petróleo P.A. - VETEC/Sigma-Aldrich em cada copo do extrator, os quais foram encaixados de forma que não permitisse o escape de vapores. O sistema foi aquecido até a ebulição do éter e mantido sob refluxo por 20 minutos. O refluxo foi interrompido e o solvente foi evaporado. Em seguida os copos foram colocados em estufa por 2 horas para a remoção completa do solvente. Calculou-se o teor de lipídeos na amostra por gravimetria.

IV.6. Obtenção do extrato

IV.6.1. Estudo dos parâmetros que influenciam a extração

O planejamento experimental foi proposto visando a análise dos fatores e das respostas de interesse para o processo em estudo. Os fatores são as variáveis que podem ser controladas no processo e as respostas são as variáveis de saída do sistema nas quais se tem interesse (Barros, Scarminio e Bruns, 2003 *apud* PIGHINELLI et al., 2008). Em situações em que se têm diversas variáveis de entrada que influenciam a resposta, utiliza-se a técnica da superfície de resposta para esta análise (Myers e Montgomery, 2002 *apud* PIGHINELLI et al., 2008).

Para o desenvolvimento deste trabalho, numa primeira fase empregou-se um planejamento experimental fatorial de 2 níveis e 3 fatores, ou seja, $2^3 = 8$ experimentos, e com triplicata do ponto central para a avaliação do erro puro, perfazendo um total de 11 experimentos.

Os fatores selecionados foram: temperatura do processo durante a extração dos compostos bioativos (variando de 40 a 50°C), relação solvente/soluto e granulometria da torta, seguindo a classificação descrita no item IV.3.2. E, como resposta, o principal parâmetro selecionado foi a quantidade de compostos com

potencial bioativo extraídos para o meio líquido. Os níveis selecionados para a temperatura e razão solvente/soluto tiveram por base as propriedades do soluto e resultados observados em trabalhos anteriores, reportados na literatura. A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** ilustra o desenho experimental

Tabela IV. 2: Variáveis do planejamento fatorial 2^3 - composto central.

Experimento	Variáveis reais			Variáveis codificadas		
	T (°C)	Razão solvente/soluto	Granulometria	X ₁	X ₂	X ₃
1	40	4	Fino	-1	-1	-1
2	50	4	Fino	1	-1	-1
3	40	8	Fino	-1	1	-1
4	50	8	Fino	1	1	-1
5	40	4	Grosso	-1	-1	1
6	50	4	Grosso	1	-1	1
7	40	8	Grosso	-1	1	1
8	50	8	Grosso	1	1	1
9	45	6	Médio	0	0	0
10	45	6	Médio	0	0	0
11	45	6	Médio	0	0	0

Para a etapa de extração foram pesadas, aproximadamente, 20 g de amostra em *erlenmeyers* previamente tarados. A cada *erlenmeyer* foi adicionada água filtrada nas proporções indicadas no planejamento experimental. As amostras foram vedadas com *Parafilm*® e colocadas no banho *Dubnoff* (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**) por 5h, nas respectivas temperaturas, com agitação. Após esse tempo as amostras foram centrifugadas em centrífuga com aquecimento, marca NOVA TECNICA, 2000 rpm, 25°C por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e alíquotas de, aproximadamente, 3 g de cada experimento foram utilizadas para a quantificação da matéria seca extraída.



Figura IV. 3: Banho *Dubnoff*

A partir dos resultados desses experimentos, fez-se a análise estatística dos dados usando-se o *software* Design-Expert 7.0.0, no qual se pode observar a influência dos parâmetros de extração e determinar as condições de processo para cada solvente selecionado.

IV.7. Determinação dos parâmetros cinéticos da extração

A partir da granulometria e relação solvente/substrato, previamente estabelecidos, conduziu-se os ensaios para a determinação dos parâmetros cinéticos da reação como descritos a seguir: para a extração aquosa dos compostos bioativos pesou-se, aproximadamente, 20g de amostra em 7 *erlenmeyers* e adicionou-se água filtrada em cada. Os *erlenmeyers* foram fechados com *Parafilm*® e colocados no banho *Dubnoff* (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**) a 50°C, com agitação.

Para a extração enzimática dos compostos bioativos pesou-se, aproximadamente, 20 g de amostra em sete *erlenmeyers* e adicionou-se uma mistura de água filtrada e 1% p/p de uma mistura enzimática produzida por *Trichoderma reesei* (RUT C30) e por *Aspergillus awamori*, gentilmente cedidas pelo Laboratório Bioetanol, IQ – UFRJ. Os *erlenmeyers* foram fechados com *Parafilm*® e colocados no banho *Dubnoff* a 50°C, com agitação.

Para a extração hidroalcoólica dos compostos bioativos pesou-se,

aproximadamente, 25 g de amostra em cada *erlenmeyer* e adicionou-se 100 mL de uma mistura de álcool etílico P.A.-VETEC/Sigma-Aldrich e água filtrada, 4:1. Os *erlenmeyers* foram fechados com *Parafilm*® e colocados no banho *Dubnoff* a 70°C, com agitação.

A cada 30 minutos um *erlenmeyer* era retirado e centrifugado em centrífuga com aquecimento NOVATECNICA 870, a 2000 rpm, 25°C por 15 minutos. Alíquotas de, aproximadamente, 3g do sobrenadante de todos os *erlenmeyers* foram retiradas e utilizadas para a quantificação dos compostos extraídos visando a construção da curva cinética para cada tipo de extração e posterior cálculo do coeficiente de difusão com o auxílio do *Software* STATISTICA 10.0.

IV.8. Obtenção dos extratos nas condições ótimas

A partir das curvas cinéticas, obtidas para cada meio, refez-se as extrações em meio aquoso, hidroalcoólico e enzimático, como citados no V.0.IV.6.1, por 90, 120 e 90 minutos, respectivamente. Os extratos foram centrifugados nas mesmas condições anteriores e todo o sobrenadante obtido foi armazenado em freezer a -20°C em recipiente de vidro com tampa.

IV.9. Caracterização dos Extratos

IV.9.1. Teor de Sólidos Solúveis

O teor de sólidos solúveis, em °Brix, foi medido no refratômetro digital de bolso ATAGO Pal-3, e foi conduzida em triplicata. Esta técnica foi utilizada para determinar a quantidade de sólidos solúveis presente em cada extrato obtido.

IV.9.1. Fenólicos Totais por Follin-Ciocalteau

Esta análise foi realizada em triplicata e seguiu o método espectrofotométrico modificado por Georgéet al. (2005), o qual utiliza ácido gálico como padrão e uma solução de Follin-Ciocalteau 10% com carbonato de sódio 7,5% para a reação colorimétrica.

Inicialmente foram feitas duas curvas padrão de ácido gálico em água e em uma solução de etanol e água 4:1, respectivamente. Os extratos foram diluídos em água destilada (1:3) e 0,5 mL de cada meio extrator foi colocado em um tubo de ensaio com 2,5 mL da solução de Follin-Ciocalteau 10%. Após 2 minutos adicionou-se 2,0 mL de carbonato de sódio 7,5% e os tubos de ensaio foram aquecidos a 50°C por 15 minutos. Após esse tempo os tubos foram resfriados em banho de gelo. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro BEL® SP 1105, a 760 nm.

IV.9.1. Açúcares redutores por DNS

Esta análise seguiu o método colorimétrico DNS adaptado por Teixeira et al. (2012) e foi realizada no Laboratório Bioetanol - UFRJ. Todas as leituras foram realizadas em triplicata para minimização do erro experimental.

Inicialmente construiu-se uma curva padrão de glicose. As amostras provenientes das extrações aquosa e enzimática precisaram ser diluídas em água (1:4) para ficarem dentro da curva padrão. Alíquotas de 0,5 mL das amostras foram colocadas em tubos de ensaios e adicionou-se 0,5 mL do reagente DNS em cada tubo. Estes foram aquecidos em banho de água a 100°C por 5 minutos. Após este tempo, adicionou-se 6,5 mL de água destilada e os tubos foram resfriados em temperatura ambiente por cerca de 10 minutos. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nm.

Capítulo V: Resultados e Discussão

V.1. Curva de secagem da semente e coeficiente de difusão

Segundo Silva (2013), a presença de uma determinada quantidade de água é necessária para o processo de extração do óleo. Neste caso, o óleo removido deixa espaços vazios na torta e as moléculas de água presentes na matriz preenchem esse espaço, favorecendo a extração. Com umidade baixa parte do óleo fica retida nos poros e com umidade excessiva a água se mistura ao óleo extraído.

Singh et al. (2002), por sua vez, relataram em seus estudos de otimização, a importância de se definir uma faixa ótima para o teor de umidade, já que foi observado que valores muito altos reduzem a fricção da massa de grãos, causando um baixo rendimento, e valores muito baixos prejudicam o funcionamento da prensa.

Desta forma faz-se necessário o conhecimento da cinética de secagem da semente de romã, a fim de se determinar as melhores condições para que seja atingida a umidade final da semente recomendada para a etapa prensagem.

A figura VI.1 mostra a curva de secagem da semente de romã em base seca. Observa-se que a umidade inicial da semente e a umidade atingida no equilíbrio foram, respectivamente, 5,23 g de água/g de matéria seca e 1,5 de água/g de matéria seca.

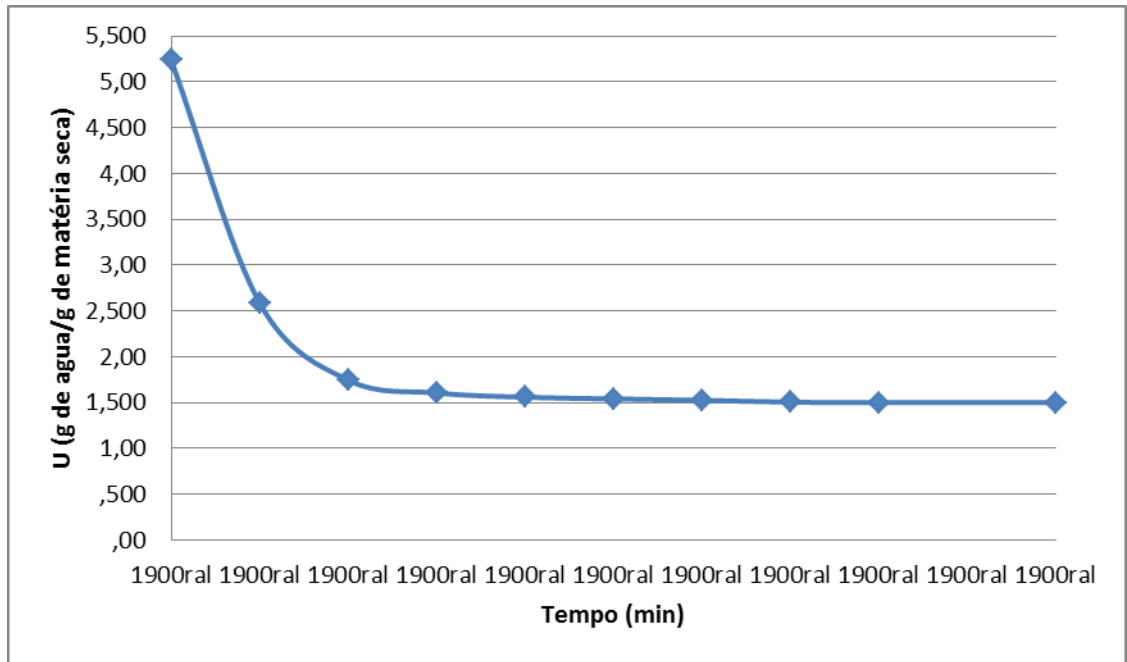


Figura V. 1: Curva cinética de secagem da semente de romã

Nota-se também que ocorreu uma perda acentuada da umidade na primeira hora de secagem e que a umidade de equilíbrio foi atingida por volta de 120 minutos. Comportamento similar foi observado por Guiné e Fernandes (2006) durante a secagem de três variedades de castanhas produzidas em Portugal. As três variedades apresentaram uma redução drástica da umidade durante as 2 primeiras horas para secagem a 70°, 80° e 90 °C, e uma perda de umidade menor nas horas seguintes até atingirem o equilíbrio.

Este comportamento corrobora com a ideia de que a água livre das sementes é facilmente removida nos estágios iniciais da secagem e ocorre um aumento da resistência de difusão da água remanescente na matriz.

Desta forma para o cálculo do coeficiente de difusão, primeiro calculou-se a umidade adimensional (U^*), utilizando a equação 6.

$$U^* = \frac{U - U_{eq}}{U_0 - U_{eq}} \quad [\text{Eq.6}]$$

onde:

U é a umidade no tempo t ,

U_{eq} a umidade de equilíbrio,

U_0 a umidade inicial.

Tabela V. 1: Dados de umidade adimensional x tempo

Tempo (horas)	U*
0,0	1,000
0,5	0,290
1,0	0,065
1,5	0,028
2,0	0,015
1,5	0,011
3,0	0,006
3,5	0,001
4,0	0,000
5,0	0,000
24	0,000

Com o auxílio do *software* STATISTICA 10.0 e utilizando-se os dados da tabela V.1, obteve-se a curva de umidade vs tempo (figura V.2) para a solução da 2ª Lei de Fick com $n=1,2$ e 3 , ajustando os dados pelo modelo não-linear, através do método de Gauss-Newton.

$$\langle U^* \rangle = \frac{6}{\pi^2} * \sum_{n=0} \frac{1}{n^2} * \exp\left[\frac{-n^2 * \pi^2 * Def * t}{R^2}\right] \quad [\text{Eq.7}]$$

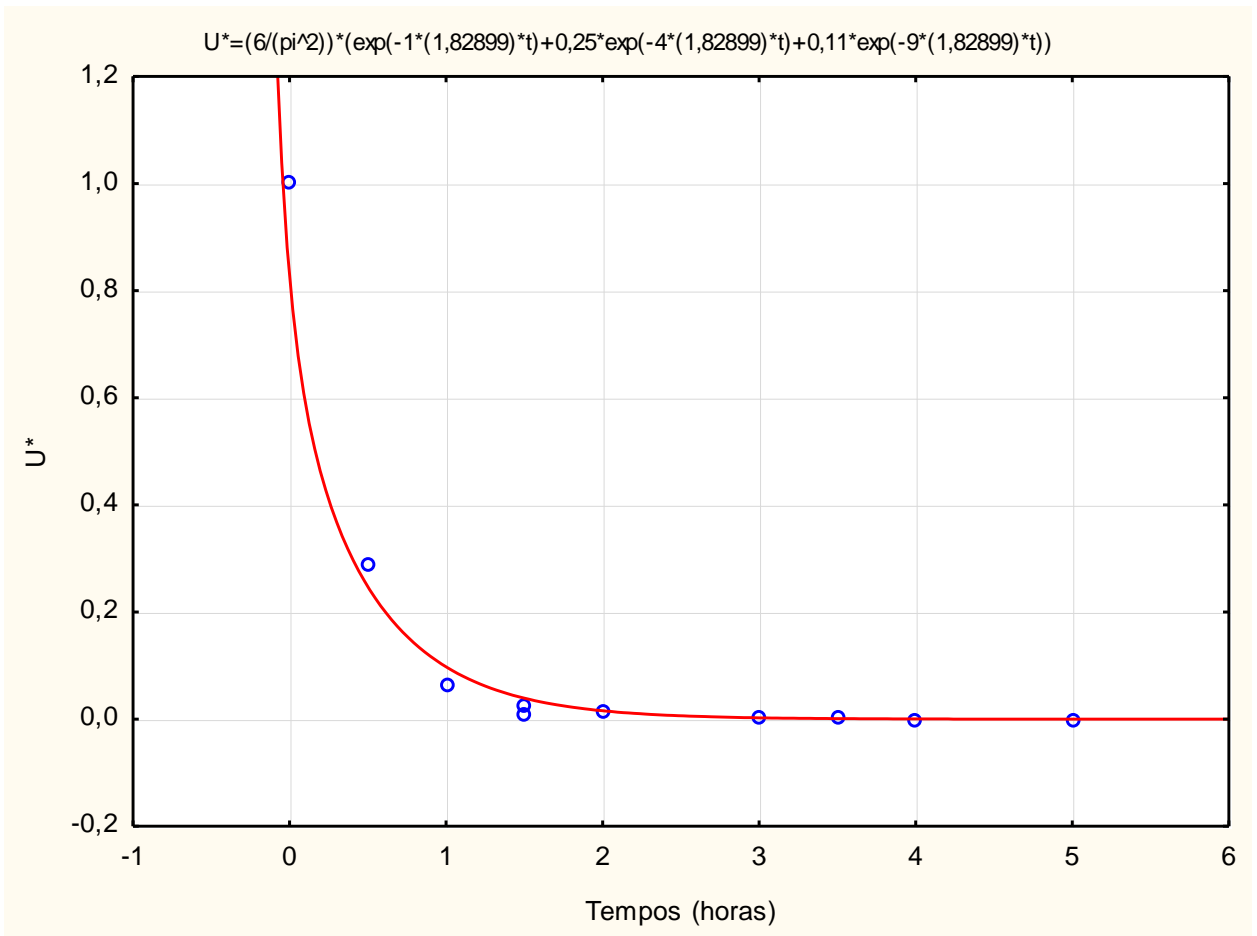


Figura V. 2: Curva cinética de secagem da semente, para a 2ª Lei de Fick com $n=3$, ajustada pelo modelo não linear.

O modelo escolhido ajustou bem os dados experimentais ($p < 0,0001$ e $F = 281,06$). A partir do valor encontrado para o parâmetro “a” ($p = 0,0003$), calculou-se o coeficiente de difusão efetivo (D_{ef}) obtendo-se o valor $1,26 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. A tabela A.1 (Apêndice A) apresenta as análises de variância (ANOVA) para a secagem das sementes.

O valor do D_{ef} estimado está dentro do esperado, uma vez que os valores típicos dos coeficientes de difusão em sólidos são caracterizados por serem muitos pequenos, da ordem de 10^{-8} a 10^{-12} , e variam de forma acentuada com a temperatura e com as diferentes características dos sólidos (PINHO; PRAZERES, 2008).

Costa et al (2011) verificaram durante a secagem de sementes de crambe um coeficiente de difusão efetivo entre $8,8 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e $5,85 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, para temperaturas entre 30° e 70°C .

Roberts et al. (2008) encontraram, durante a secagem de sementes de uva a 40°, 50° e 60°C, coeficientes de difusão efetivos variando entre $1,57 \times 10^{-10}$ e $3,96 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para uvas Riesling, $2,93 \times 10^{-10}$ e $5,91 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para uvas Concord e $3,89 \times 10^{-10}$ e $8,03 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para uvas Cabernet Franc.

Goneli et al. (2007) reportaram coeficientes de difusão entre $8,67 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e $42,87 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a secagem de grãos de trigo em 25°, 35°, 45° e 55°C. Já Silva (2008) encontrou coeficiente de difusão entre 2,7 e $9,5 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, para a secagem de bagaço de cajá contendo as sementes, a 55 e 75°C, com velocidades do ar entre 3,2 e $6,0 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

V.2. Caracterização da torta

V.2.1. Umidade e teor de óleo residual

Inicialmente as sementes de romã apresentaram cerca de 60% de umidade, sendo realizada uma secagem prévia até atingirem em torno de 15% de umidade.

A tabela V.2. mostra a umidade e o teor de óleo das sementes antes da prensagem e da torta após a prensagem.

Tabela V. 2: Teor de umidade e de óleo das sementes antes da prensagem e da torta após a prensagem.

	Umidade	Teor de óleo (g.100g⁻¹)
Semente	13,04±0,20	16,46±0,29
Torta	10,78±0,24	11,31±0,21

O teor de óleo encontrado está dentro dos valores esperados. Pighinelli et al. (2008) relataram que prensas do tipo *expellers* de pequena capacidade, até 40 kg/h, deixam 8 a 14% de óleo residual na torta. Além disso, o rendimento do óleo é afetado por parâmetros construtivos da prensa, como dimensionamentos do eixo sem fim, pressão aplicada sobre a massa de grãos e por parâmetros do processo como a temperatura de prensagem e teor de umidade das amostras (PIGHINELLI et al., 2008).

A pequena perda de umidade observada durante a prensagem deu-se pelo fato de ocorrer um aquecimento natural do parafuso durante a prensagem, o que faz com que parte da água presente na matriz evapore.

V.2.2. Granulometria

Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** ilustra-se a distribuição granulométrica da torta obtida após a extração do óleo e na Figura V.3 mostra-se o histograma de distribuição granulométrica.

Tabela V. 3: Distribuição granulométrica da torta

Mesh	Abertura (mm)	Diâmetro médio (mm)	Massa de pó (g)	X (%)
14	1,190	--	7,89	2,12
28	0,590	0,89	259,40	69,80
32	0,500	0,55	14,84	3,99
35	0,425	0,46	2,60	0,70
48	0,297	0,36	71,65	19,30
fundo	0,000	0,15	15,53	4,18

A torta obtida apresentou diâmetro distribuído de forma bimodal, típica de material amorfo. Cerca de 70% da torta obtida apresentou granulometria entre 0,590 e 1,19 mm e, aproximadamente, 20 % com diâmetro entre 0,297 e 0,425 mm. O diâmetro médio de Sauter foi estimado em 5,93 μm .

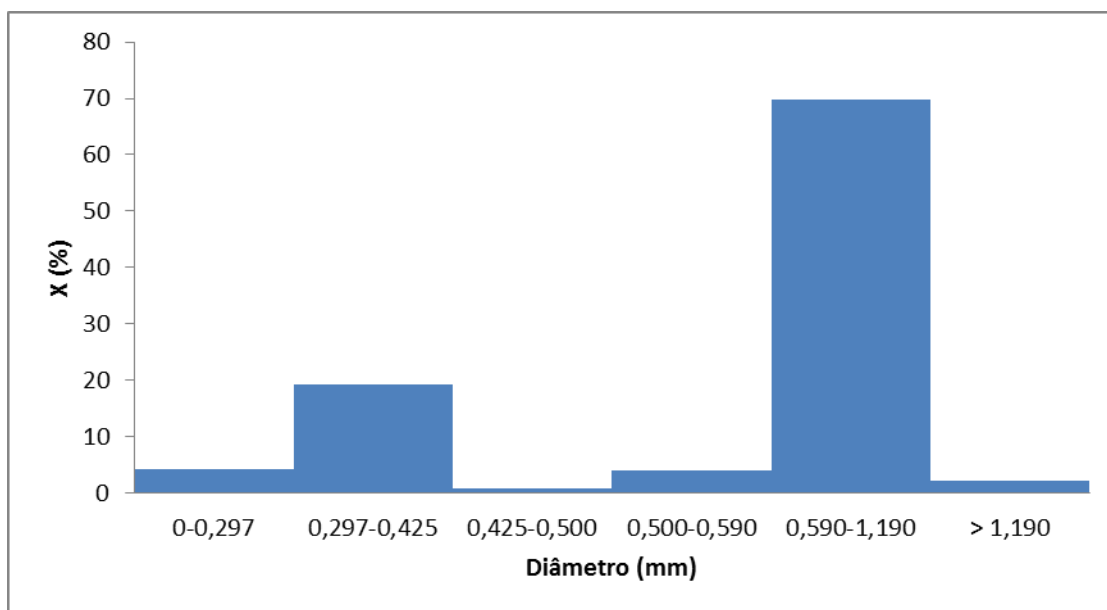


Figura V. 3: Histograma da distribuição granulométrica da torta de semente de romã.

Este resultado foi similar ao encontrado por Silva (2013), no qual 68% das sementes de romã moídas apresentaram granulometria entre 0,71 e 1,19 mm, no entanto, no caso da semente moída a distribuição granulométrica segue uma distribuição unimodal.

A partir destes resultados classificou-se como “grosso” as partículas com granulometria acima de 1,19 mm, “médio” as partículas com granulometria entre 1,19 e 0,50 mm e “fino” as partículas com granulometria menor que 0,50 mm. Essa classificação foi utilizada na seleção dos parâmetros para a etapa de extração.

V.3. Estudo dos parâmetros que influenciam a extração

Conforme já citado no V.0.IV.6.1 foram realizadas extrações a 40°, 45° e 50°C, com relação solvente/soluto igual a 4, 6 e 8 e granulometria da torta seguindo a classificação feita no item V.2.2., sendo a combinação entre eles mostrada na tabela IV.2.. E, como resposta, o parâmetro escolhido foi a quantidade de fibras solúveis com potencial bioativo extraídos para o meio. Os resultados obtidos foram analisados com auxílio do *software* Design-Expert 7.0.0.

Dos modelos empíricos para estimar a influência de cada variável sobre o processo, o que melhor se ajustou aos dados experimentais ($F = 16,62$ e $p < 0,005$) foi o logaritmo, gerando a equação 8.

$$\text{Log}_{10}(y) = 0,12 + 0,014*a - 0,081*b - 0,067*c \quad [\text{Eq.8}]$$

onde:

y = massa de extrato em base seca

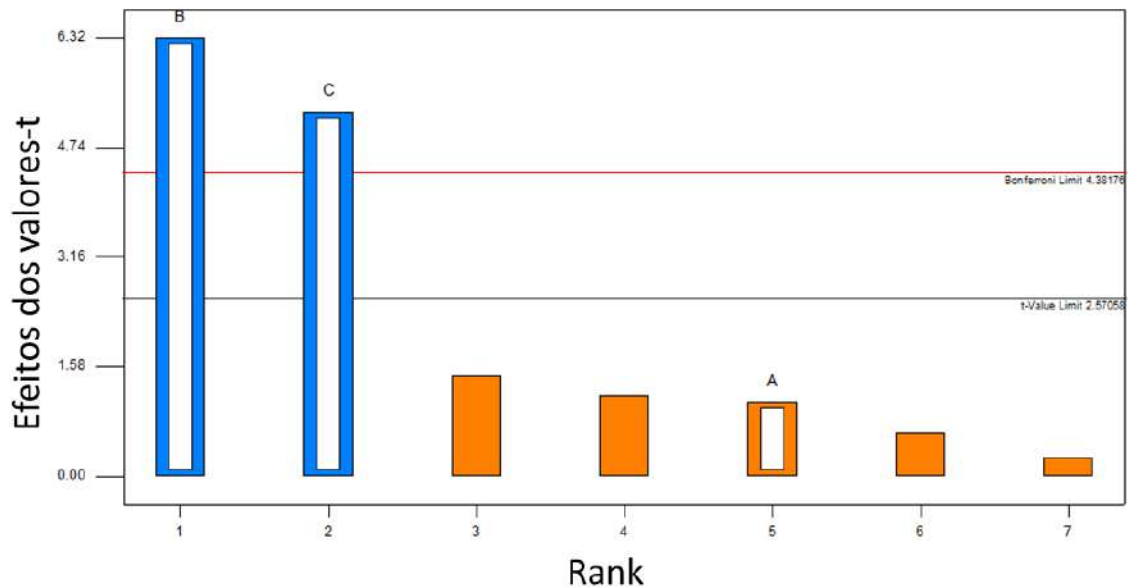
a = temperatura do processo

b = razão solvente/soluto

c = granulometria

No gráfico dos valores estimados vs valores obtidos (Apêndice A.2) registrou-se um erro muito baixo o que reforça a escolha deste modelo. O gráfico de Pareto (Figura V.4) por sua vez indica que a variável independente de maior impacto foi a razão solvente/soluto, seguido pela granulometria, para a variável “eficiência de extração”. A temperatura não apresentou influência significativa. Como era esperado, o aumento da quantidade de solvente e a diminuição do tamanho das partículas aumentou a eficiência da extração.

Diagrama de Pareto



*Colunas em azul são efeitos negativos e em laranja são os efeitos positivos

Figura V. 4: Diagrama de Pareto da variável “eficiência de extração”. A: temperatura, B: razão solvente/soluto e C: granulometria

V.4. Curva de extração e coeficiente de difusão

Como a temperatura não apresentou influência significativa na eficiência da extração, selecionou-se o valor de 50 °C para conduzir o estudo cinético do processo tanto para a extração aquosa quanto a enzimática, por esta também ser indicada como temperatura ótima de atuação da enzima, e o valor de 70°C para a extração hidroalcoólica, com base em dados da literatura.

Apesar de a menor granulometria ter sido ligeiramente mais efetiva para a extração, optou-se por utilizar a torta integral, sem separação das frações pelo tamanho, pois industrialmente não seria viável essa separação. Por fim, optou-se também por estudar a cinética utilizando a menor razão solvente/soluto, visando um processo economicamente competitivo e com menor geração de resíduos.

Com todos os parâmetros definidos, procedeu-se ao estudo da cinética da extração. A Figura V.5 mostra a quantidade de composto extraído x tempo para cada processo realizado.

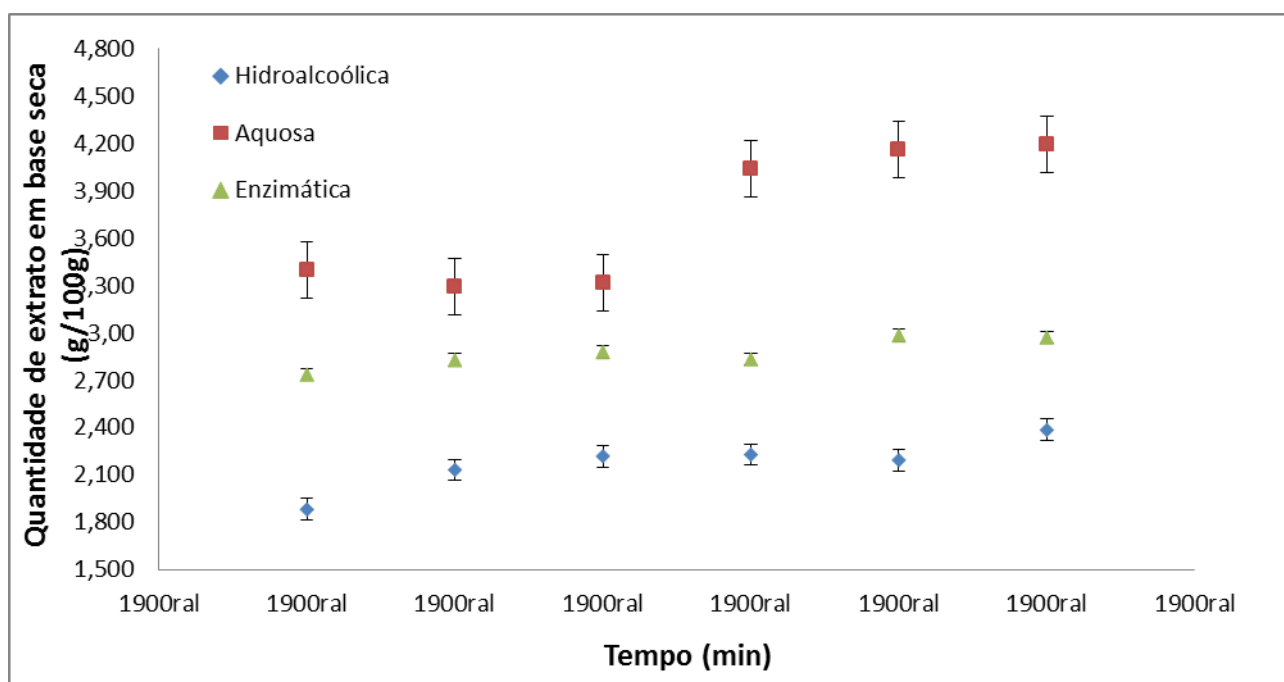


Figura V. 5: Curvas cinéticas das extrações aquosa, enzimática e hidroalcoólica.

Nota-se pela figura V.5 que as extrações enzimática e hidroalcoólica a partir de 90 minutos, forneceram resultados com pouca variação (assintótico). Já para a extração aquosa os resultados só estabilizaram depois de 120 minutos.

A partir desses resultados, e com auxílio do software STATISTICA 10.0, foi possível construir as curvas de taxa de extração (C^*) versus tempo e ajustando a equação da 2ª Lei de Fick (Eq.7) com 3 termos, pelo modelo não-linear, aplicando-se o método de Gauss-Newton, calculou-se o coeficiente de difusão para cada extração realizada.

A Figura V.6 apresenta as curvas obtidas e as tabelas A.3 (Apêndice A), apresenta as análises de variância (ANOVA) para cada extração. Em todas as análises o valor de p foi inferior a 0,0001 e os valores de F iguais a 99,51, 81,89 e 130,6 para as extrações aquosa, enzimática e hidroalcoólica, respectivamente.

Com os valores obtidos pelo ajuste não linear, pode-se calcular os coeficientes de difusão que foram $2,96 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração aquosa, $3,54 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração enzimática e $6,26 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração hidroalcoólica.

Como esperado, os valores dos coeficientes de difusão durante a etapa de extração foram menores que o coeficiente de difusão durante a secagem, uma vez que, durante a extração é necessário que o solvente penetre no material e “libere” os compostos ligados a matriz, que muitas vezes estão protegidos pela parede celular. Dessa forma fatores como as características do material, o tipo de solvente utilizado, os compostos que se deseja extrair e o tipo de ligação desses compostos com a matriz influenciam na extração e, conseqüentemente, no coeficiente de difusão efetivo.

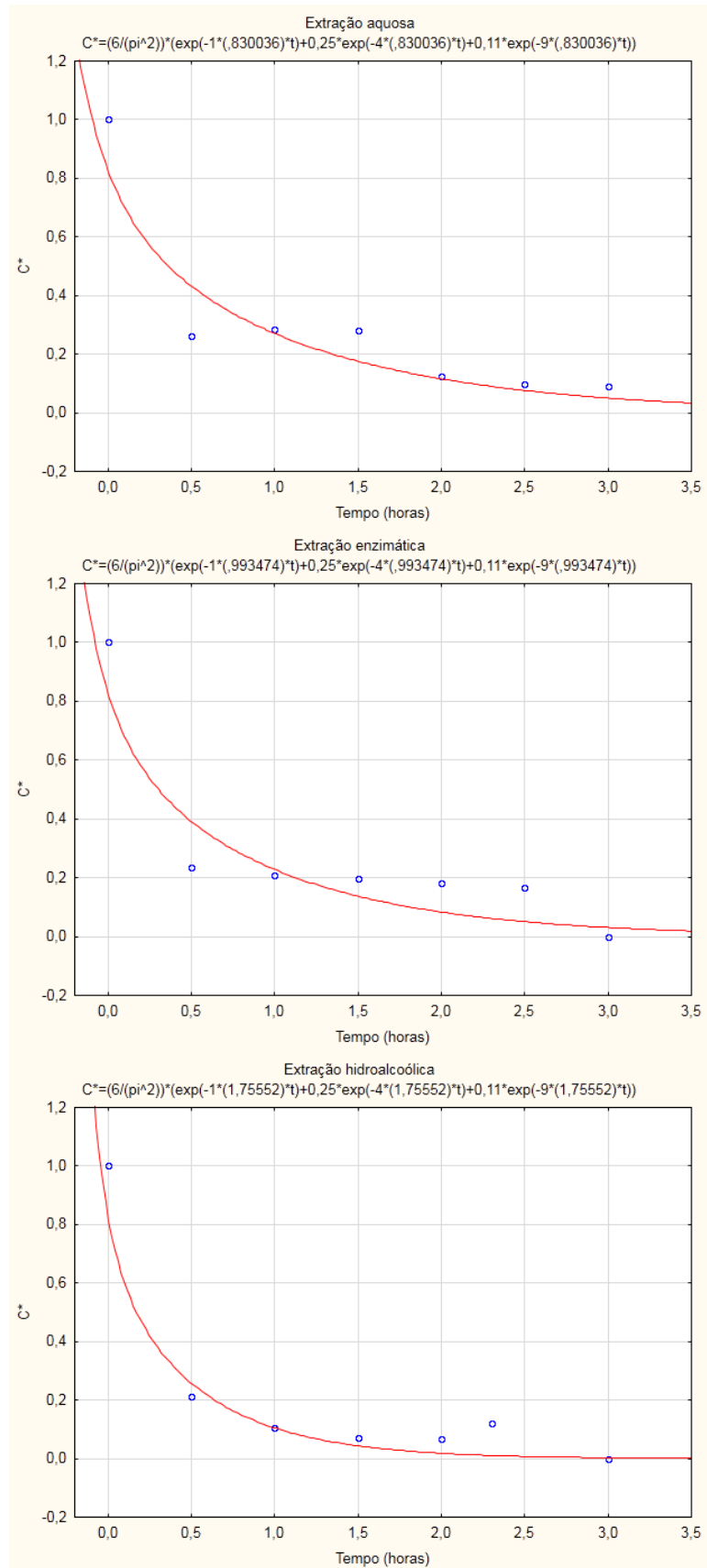


Figura V. 6: Curvas cinéticas das extrações aquosa, enzimática e hidroalcoólica para a 2ª Lei de Fick com 3 termos (n=3) ajustada pelo modelo não linear.

V.5. Caracterização dos Extratos

V.5.1. Aspecto visual e teor de sólidos solúveis

Visualmente os extratos obtidos apresentaram uma diferença de coloração, sendo que o extrato hidroalcoólico mostrou-se mais claro e translúcido. Os extratos aquoso e enzimático, por sua vez, apresentaram aspecto bem semelhante, com uma coloração mais escura e mais turva quando comparada ao extrato hidroalcoólico. A figura V.7. mostra a diferença de coloração dos extratos obtidos.



Figura V. 7: Aspecto visual dos extratos obtidos.

A diferença visual quanto à turbidez foi confirmada pela análise do teor de sólidos solúveis, mostrados na tabela V.4. Percebe-se que os extratos aquoso e enzimático obtiveram valores próximos, enquanto que o extrato hidroalcoólico apresentou valor muito maior.

No entanto, sabe-se que o etanol eleva o índice de refração das soluções. O índice de refração medido da solução hidroalcoólica (1:4) pura foi de 19,4°Brix. Assim, o teor de sólidos solúveis corrigido para o extrato hidroalcoólico seria igual a 1,1°Brix.

Tabela V. 4: Teor de sólidos solúveis dos extratos obtidos

Extrato	°Brix	°Brix do solvente
Aquoso	1,4 ± 0,1	0,0
Enzimático	1,5 ± 0,1	0,0
Hidroalcoólico	21,5 ± 0,2	19,4

V.5.2. Quantificação de compostos fenólicos e açúcares redutores

A tabela V.5.mostra os resultados da quantificação de compostos fenólicos por Follin-Ciocalteau e de açúcares redutores utilizando DNS.

Tabela V. 5: Resultados da quantificação de compostos fenólicos totais e açúcares redutores (AR).

Extrato	Fenólicos Totais (mg ácido Gálico.100g⁻¹)	AR Total (g. glicose.L⁻¹)
Aquoso	30,37 ± 0,88	3,02 ± 0,13
Enzimático	29,05 ± 0,26	3,16 ± 0,11
Hidroalcoólico	28,18 ± 1,31	1,50 ± 0,06

Pelos resultados apresentados observou-se que as quantidades de compostos fenólicos totais, para todos os extratos, não apresentaram diferença significativa entre si, para um nível de significância de 5%, de acordo com teste de Fisher. No caso dos açúcares redutores, os extratos aquoso e enzimático não apresentaram diferença significativa no mesmo teste.

Jinget al. (2012), ao estudar a extração de compostos fenólicos da semente de quatro variedades de romã cultivadas na China, encontraram valores entre 1,29±0,10 e 2,17±0,05 mg EAG/100g. Já Zaouayet al. (2012) encontraram para o suco de romã de diferentes cultivares da Tunísia, valores de compostos fenólicos totais entre 133,93 e 350,06 mg EAG/100 ml.

Muitos autores já relataram que a atividade antioxidante está relacionada primeiramente com a quantidade de compostos fenólicos presentes, sendo assim, pode-se afirmar que todos os extratos apresentam algum potencial bioativo. Entretanto, os resultados obtidos para açúcares redutores foi inferior aos resultados obtidos por Alcantaraet al (2007) e Matias et al (2005) para bagaço de frutas.

Não foram encontrados dados na literatura sobre a quantidade de açúcares redutores em romã. No entanto, Alcantara et al (2007) encontraram, para o bagaço de caju seco, uma quantidade de açúcares redutores igual a $24,47 \pm 1,16 \text{ g.g}^{-1}$. Já Matias et al. (2005) encontraram, no bagaço de goiaba e de caju, respectivamente, $13,32 \pm 0,46 \text{ mg.glicose.100g}^{-1}$ e $6,84 \pm 0,78 \text{ mg.glicose.100g}^{-1}$.

Capítulo VI: Conclusão

Durante a secagem das sementes observou-se uma perda constante e acentuada da umidade nos primeiros 60 minutos de secagem. Entretanto, a umidade de equilíbrio somente foi atingida por volta de 120 minutos, indicando que o processo ocorreu com taxa de secagem decrescente a partir de 60 minutos. A cinética da secagem apresentou um bom ajuste pela 2ª Lei de Fick, e o coeficiente de difusão calculado foi similar aos valores reportados na literatura.

Como desejado, a torta apresentou umidade e teor de óleo menor do que a semente e a distribuição granulométrica seguiu um perfil bimodal, com diâmetro de Sauter igual a 5,93 μm .

O delineamento experimental mostrou que, dentro das faixas estudadas, para a variável “eficiência de extração”, a razão solvente/soluto foi a variável independente de maior impacto seguida pela granulometria enquanto a temperatura não apresentou influência significativa.

As curvas cinéticas para as extrações enzimática e hidroalcoólica mostraram-se estáveis após 90 minutos e para a extração aquosa em 120 minutos. Todas apresentaram um bom ajuste para a 2ª Lei de Fick e os coeficientes de difusão calculados, $2,96 \times 10^{-12} \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração aquosa, $3,54 \times 10^{-12} \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração enzimática e $6,26 \times 10^{-12} \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para a extração hidroalcoólica, indicam que a velocidade do transporte foi maior no meio etanólico.

Apesar de visualmente os extratos obtidos aparentarem diferenças entre si, os índices de refração foram próximos.

A quantidade de compostos fenólicos totais, para todos os extratos, não apresentou diferença significativa (para um nível de significância de 5%, no teste de Fisher). Entretanto, para os açúcares redutores, os valores obtidos para a extração aquosa e enzimática foram superiores aos obtidos com etanol, respectivamente, $3,02 \pm 0,13$, $3,16 \pm 0,11$ e $1,50 \pm 0,06 \text{ g. glicose.L}^{-1}$.

O etanol é, portanto, o solvente mais indicado quando se deseja obter um bom teor de compostos fenólicos com um menor teor de açúcares no meio extrator.

Capítulo VII. Sugestões para trabalhos futuros

- Fazer o Planejamento experimental para os outros solventes.
- Estudar, por meio de um delineamento experimental mais rigoroso, outros fatores que aumentem a eficiência de extração.
- Caracterizar os extratos quanto à atividade antioxidante e quantificar outros compostos, tais como fibras solúveis, com potencial bioativo presentes no extrato.
- Conduzir uma análise econômica do processo de extração e estimar sua viabilidade.
- Estudar a aplicabilidade destes compostos extraídos em formulações de alimentos e cosméticos.

Capítulo VIII: Bibliografia

ADECE – AGENCIA DE DESENVOLVIMENTO DO CEARA. **Perfil da produção de frutas no Brasil**. Fortaleza, 31 p., 2013.

ALCANTARA, S. R.; ALMEIDA, F. A. C.; SILVA, F. L. H. Emprego do bagaço seco do pendunculo do caju para posterior utilização em um processo de fermentação semi sólida. **Revista Brasileira de produtos agroindustriais**, IV. 9, n. 2, p. 137-142, 2007.

ANDERSON, J. W. et al. Health benefits of dietary fiber. **Nutrition reviews**, IV. 67, n. 4, p. 188–205, abr. 2009.

AZEVEDO, B. C. **Modelagem da extração multiestágio e contracorrente aplicado à cana-de-açúcar**. 1996, 77 f. Dissertação (mestrado em engenharia de alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

AZZOUZ, S. et al. Moisture diffusivity and drying kinetic equation of convective drying of grapes. **Journal of Food Engineering**, IV. 55, n. 4, p. 323–330, dez. 2002.

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R.E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 1th. ed. Campinas:Ed. da UNICAMP, 2003.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, IV. 29, n. 1, p. 113–123, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Fruticultura - Uma década de bons frutos. **INFORMATIVO CGPCP**, IV. 46, p. 1–7, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.. Projeções do agronegócio - Brasil 2012/2013 a 2022/23. **Acessoria de Gestão estratégica**. 98 p., 2013.

CAMARA MUNICIPAL DE LEIRIA. **Punica granatum**. Ficha de vegetação. Disponível em: < http://www.cm-leiria.pt/uploads/writer_file/document/802/20120817155046521908.pdf>. Acesso em: 05 maio 2014.

CARVALHO, J.; MIRANDA, D. As exportações brasileiras de frutas: um panorama atual. **Congresso Brasileiro de Economia**, 2009, Brasil. p. 1–20, 2009.

CORRÊA, S. et al. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**. Santa Cruz do Sul. Editora Gazeta Santa Cruz, 136 p., 2008.

COSTA, L. M. et al. Coeficiente de difusão efetivo e modelagem matemática da secagem de sementes de crame. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, IV. XV, p. 1089-1096, Agosto 2011.

DEGÁSPARI, C. H.; DUTRA, A. P. C. Propriedades fitoterápicas da romã. **Visão Acadêmica**, IV. 12, n.1, p. 36–46, 2011.

DEOTI, J. R.; SANTOS A. A.; ALVEZ JUNIOR, S. L. Nova metodologia de dosagem de açúcares redutores confere maior velocidade à análise de parâmetros de processos fermentativos. In: Seminário de ensino, pesquisa e extensão da UFFS. Chapecó, 2013. **Anais do 3º SEPE**: 2013.

DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL. **Fruticultura - Análise da Conjuntura Agropecuária**, 2012. Disponível em <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/fruticultura_2012_13.pdf>. [s.l: s.n.].

ELFALLEH, W. et al. Antioxidant Capacities of Phenolic Compounds and Tocopherols from Tunisian Pomegranate (*Punica granatum*) Fruits. **Journal of Food Science**, IV. 76, n. 5, p. 707–713, 2011.

EL-NEMR, S. E.; ISMAIL, I. A.; RAGAB, M. Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit. **Die Nahrung**, IV. 34, n. 7, p. 601–606, 1990.

FERREIRA, C. P. S. **Extração em meio aquoso e concentração por processos de membranas de fibras solúveis a partir do bagaço de uva branca**. 2013, 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Tecnico Lisboa, Lisboa, 2013.

GASTÓN, A. L.; ABALONE, R. M.; GINER, S. A. Wheat drying kinetics. Diffusivities for sphere and ellipsoid by finite elements. **Journal of Food Engineering**, IV. 52, n. 4, p. 313–322, maio 2002.

GEORGÉ, S. et al. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of agricultural and food chemistry**, IV. 53, n. 5, p. 1370–3, 9 mar. 2005.

GUINÉ, R. P. F.; FERNANDES, R. M. C. Analysis of the drying kinetics of chestnuts. **Journal of Food Engineering**, IV. 76, n. 3, p. 460–467, out. 2006.

GUINÉ, R. P. F.; RODRIGUES, A. E.; FIGUEIREDO, M. M. Modelling and simulation of pear drying. **Applied Mathematics and Computation**, IV. 192, n. 1, p. 69–77, set. 2007.

GONELI, A. L. D. et al. Estudo da difusão de umidade em grão de trigo durante a secagem. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, IV. 27, n. Primeira, p. 135-140, Janeiro-Março 2007.

IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Panorama da cadeia produtiva das frutas em 2012 e projeções para 2013**. Disponível em: <www.todafruta.com.br/noticia_anexo_arquivo.php?id=39>. Acesso 29 abril 2014.

INCROPERA, F. P. et al. **Fundamentals of heat and mass transfer**. 6th. ed. Hoboken:Ed. John Willian and sons, 2007.

JARDINI, F. A. **Atividade dos compostos fenólicos antioxidantes da romã (*Punica granatum*, L) - avaliação in vivo e em cultura de células**. 2010, 115 f. Tese (Doutorado em Farmacia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

JING, P. et al. Antioxidant properties and phytochemical composition of China-grown pomegranate seeds. **Food Chemistry**, 2012. 1457-1464.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos - teorias e aplicações práticas**. 1st. ed. Ed. LAB, 2008.

MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. **Comunicado Técnico - 85.4** p., mar, 2013.

Market Intelligence. Disponível em: <<http://mi.agri.net.in/main.aspx>>. Acesso em: 29 abril 2014.

MARKOWSKI, M.; BIAŁOBRZEWSKI, I.; MODRZEWSKA, A. Kinetics of spouted-bed drying of barley: Diffusivities for sphere and ellipsoid. **Journal of Food Engineering**, IV. 96, n. 3, p. 380–387, fev. 2010.

MATIAS, M. F. O. et al. Use of fibres obtained from the cashew (*Anacardium occidentale*, L) and guava (*Psidium guajava*) fruits for enrichment of food products. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, IV. 48, special, p. 143-150, jun. 2005.

McCABE, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOT, P. **Unit Operation os chemical engineering**. 5th. ed. Nova Iorque: Ed. Graw Hill International, 1985.

MINISTRY OF COMMERCE. **Project report on export promotion of pomegranate from india**. 2007. Disponível em: <http://smallb.in/sites/default/files/knowledge_base/PomogranateExportPromotionReport_opt.pdf>. Acesso: 29 abril 2014.

MONTEIRO, F. **Diferentes proporções de fibra insolúvel e solúvel de grãos de aveia sobre a resposta biológica de ratos**. 2005, 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

NOGUEIRA, R. I. et al. **Drying Kinetics of Pomegranate (*Punica Granatum*) Peels**. [s.l.]. 2012.

NOGUEIRA, R. I. et al. Microencapsulation of bioactive compounds from pomegranate (*punica granatum* L) juice using spray drying. In: European Drying Conference. Espanha, 2011. **Anais do congresso**: 2011, p. 26–28.

OLIVEIRA, E. M. M. et al. Aplicabilidade da técnica de PCR-RAPD para determinação do perfil genotípico de variedades de romã. In: Congresso brasileiro de recursos energéticos, II. Belem, 2012. **Anais do congresso**: 2012.

OLIVEIRA, R. A.; OLIVEIRA, W. P.; PARK, K. J. Determinação da difusividade efetiva da raiz da chicória. **Eng. Agric.**, IV. 26, n. 1, p. 181–189, 2006.

OTF GROUP. **Pomegranates - Albanian Export Opportunities to Europe and the Region**. [s.l]. 2007.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Antioxidantes alimentares: importância química e biológica Dietary antioxidants: chemical and biological importance. **Nutrire**. IV. 34, n. 3, p. 231–247, 2009.

PIGHINELLI, A. L. M. T. et al. Otimização da prensagem a frio de grãos de amendoim em prensa contínua tipo expeller. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, IV. 28, 2008.

PINHO, M. N. D.; PRAZERES, D. M. **Fundamentos da transferência de massa**. 1. ed. Lisboa: IST Press, 2008.

ROBERTS, J. S.; KIDD, D. R.; PADILLA-ZAKOUR, O. Drying Kinetics of grape seeds. **Journal of Food Engineering**, p. 460-465, 2008.

ROCHA, L. G. Aproveitamento de resíduos agroindustriais. **Dossiê Técnico - Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais**. p. 1–33, 2011.

RODRIGUES, M. I.; LEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de projetos**. 2. ed. Campinas: [s.e.], 2009.

SENA, R. F.; NUNES, M. L. Utilização de resíduos agroindustriais no processamento de rações para carcinicultura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, IV. 7, n. 2, p. 94–102, 2006.

SILVA, N. K. **Extração de óleos vegetais a partir de coprodutos gerados na produção de vinhos e de suco de Romã**. 2013 Dissertação (Mestre em Ciências) - Universidade Federal do rio de Janeiro, 2013.

SILVA, N. K. et al. Obtenção e caracterização de óleo de semente de romã (*punica granatum*) por prensagem a frio. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, XIX. 2012, Buzios - RJ. **Anais do congresso**. 2012, p. 9989-9995.

SILVA, IV. et al. Experimental and mathematical study of the discontinuous drying kinetics of pears. **Journal of Food Engineering**, IV. 134, p. 30–36, ago. 2014.

SINGH, M. S. et al. Development of mathematical models to predict sunflower oil expression. **Transactions of the ASAE**, p. 1190-1194, 1984.

SOUSA, M. S. B. et al. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciências Agrotec**. IV. 35, n. 3, p. 554–559, 2011.

TEXEIRA, R. S. et al. Amino Acids Interference on the qualification of reducing sugar by the 3,5 dinitro salicylic acid assay mislead carboydrase activity measurements. **Carboydrate research**, IV. 363, p. 33-37, 2012.

VIANA, M. M.; JULIÃO, L. Importação – um negócio que apresenta ameaças mas também oportunidades ao produtor brasileiro. **Hortifruti Brasil**, p. 8–10, noIV. 2013.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Chemical, physico chemical and functional properties of pomegranate bagasses powder co-products. **Journal of food engineering**, p. 220-224, 2012.

YORDI, E. G. et al. Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. **Nutrition, Well-Being and Health**. p. 23–48, 2012.

ZAOUAY, F. et al. Antioxidant activity and physico-chemical properties of Tunisian grown pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivars. **Industrial Crops and Products**, IV. 40, p. 81–89, noIV. 2012.

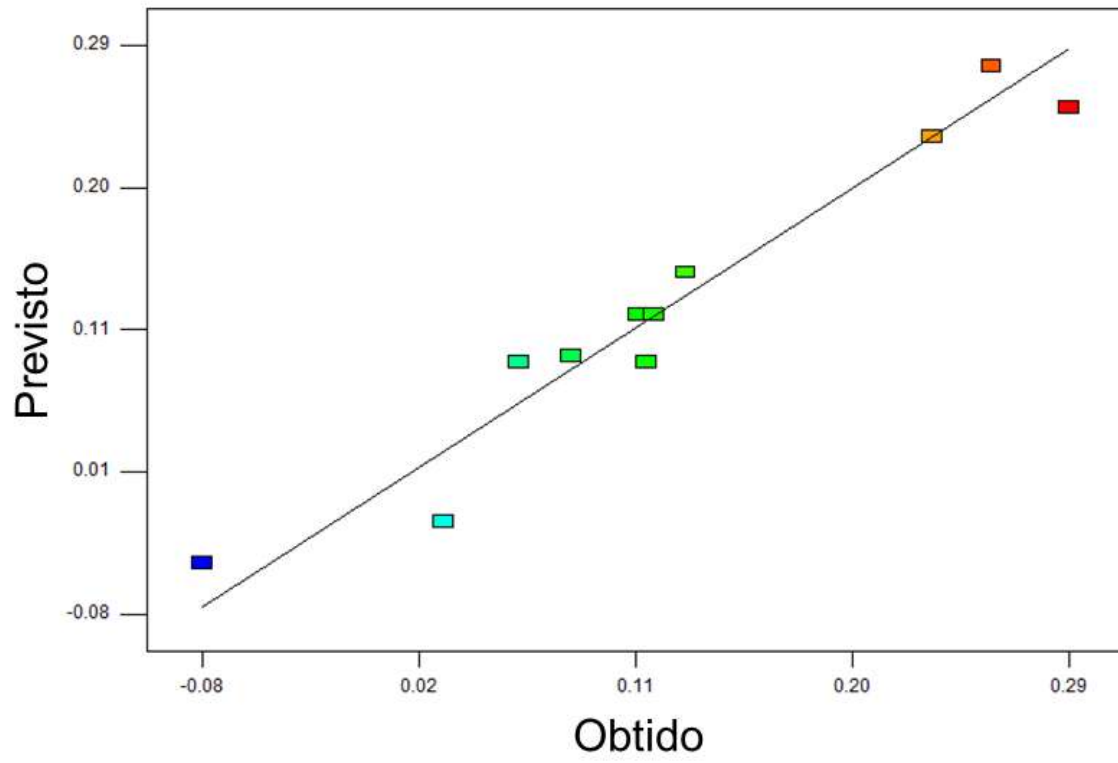
Apêndice

Apêndice A. Resultados estatísticos obtidos pelos softwares Design-Expert 7.0.0 e STATISTICA 10.0.

Apêndice A.1: Valores obtidos para o ajuste do modelo não-linear da 2ª lei de Fick com $n=3$, para a curva cinética de secagem das sementes de romã e parâmetro "a".

	Somatório dos quadrados	DF	Mínimos quadrados	F-valor	P-valor	
Regressão	1,055687	1,00000	1,055687	281,0581	0,000000	
Resíduo	0,033805	9,00000	0,003756			
Total	1,089492	10,00000				
Total Corrigido	0,888986	9,00000				
Regressão x Total Corrigido	1,055687	1,00000	1,055687	10,6877	0,009695	
	Valor estimado	Erro padrão	t-valor	p-valor	Limite inferior	Limite superior
Parâmetro "a"	1,828993	0,330385	5,535948	0,000363	1,081611	2,576375

Apêndice A.2: Comparação entre os valores previstos e obtidos durante o delineamento experimental de 2 níveis e 3 fatores.



Apêndice A.3: Valores obtidos para o ajuste do modelo não-linear da 2ª lei de Fick com n=3, para as curvas cinéticas das extrações aquosa, enzimática e hidroalcoólica e os respectivos parâmetros "a".

Extração Aquosa						
	Somatório dos quadrados		DF	Mínimos quadrados	F-valor	P-valor
Regressão	1,191523		1,000000	1,191523	99,50883	0,000059
Resíduo	0,071844		6,000000	0,011974		
Total	1,263367		7,000000			
Total Corrigido	0,607322		6,000000			
Regressão x Total Corrigido	1,191523		1,000000	1,191523	11,77157	0,013955
	Valor estimado	Erro padrão	t-valor	p-valor	Limite inferior	Limite superior
Parâmetro "a"	0,830036	0,187888	4,417707	0,004482	0,370290	1,289783

Extração Enzimática						
	Somatório dos quadrados		DF	Mínimos quadrados	F-valor	P-valor
Regressão	1,116278		1,000000	1,116278	81,89273	0,000102
Resíduo	0,081786		6,000000	0,013631		
Total	1,198064		7,000000			
Total Corrigido	0,633435		6,000000			
Regressão x Total Corrigido	1,116278		1,000000	1,116278	10,57357	0,017429
	Valor estimado	Erro padrão	t-valor	p-valor	Limite inferior	Limite superior
Parâmetro "a"	0,993474	0,257936	3,851633	0,008444	0,362328	1,624621

Extração Hidroalcoólica						
	Somatório dos quadrados		DF	Mínimos quadrados	F-valor	P-valor
Regressão	1,191523		1,000000	1,191523	99,50883	0,000059
Resíduo	0,071844		6,000000	0,011974		
Total	1,263367		7,000000			
Total Corrigido	0,607322		6,000000			
Regressão x Total Corrigido	1,191523		1,000000	1,191523	11,77157	0,013955
	Valor estimado	Erro padrão	t-valor	p-valor	Limite inferior	Limite superior
Parâmetro "a"	1,755524	0,469460	3,739456	0,009629	0,606797	2,904251