

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

SALVADOR CARLOS GRANDE

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DOS FARELOS DE OLEAGINOSAS
ATRAVÉS DE MÉTODOS QUÍMICO E ENZIMÁTICO**

Belo Horizonte-Minas Gerais

Outubro 2016

SALVADOR CARLOS GRANDE

**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DOS FARELOS DE OLEAGINOSAS
ATRAVÉS DE MÉTODOS QUÍMICO E ENZIMÁTICO**

Tese a apresentada ao Programa de Pós-Graduação Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química

Linha de Pesquisa: Engenharia de Alimentos

Orientadora: Prof. Doutora Érika Cristina Cren

Belo Horizonte- Minas Gerais

Outubro de 2016



Universidade Federal de Minas Gerais
Escola Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Tese intitulada “**ESTUDO DA EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DOS FARELOS DE OLEAGINOSAS ATRAVÉS DE MÉTODOS QUÍMICO E ENZIMÁTICO**” de autoria de SALVADOR CARLOS GRANDE aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Profa Dra. Cintia Nanci Kobori
Universidade Federal São Joao Del Rei- Campo de Sete Lagoas-MG

Profa. Dra Fabiana Queiroz
Universidade Federal de Lavras-MG

Profa. Dra Raquel Linhares Bello de Araújo
Faculdade de Farmácia-UFMG

Profa. Dra Viviane dos Santos Birchal
Departamento de Engenharia Química-EE-UFMG

Profa. Dra. Érika Cristina Cren- DEQ-EE-UFMG.- Orientadora

Prof. Dra. Vanessa de Freitas Cunha Lins Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - PPGEQ EE/UFMG

Data de aprovação: Belo Horizonte, de. de 2016

Av. Antônio Carlos, 6627 - Belo Horizonte, MG - 31270-901 - Brasil - Tel.: (31) 3409-1773

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais Carlos Taiobo e Francisca Grande, pela inspiração em ser uma pessoa melhor a cada dia, eu **DEDICO**.

À minha orientadora, Érika Cren, pela dedicação, esforço, disponibilidade incondicional, principalmente pela paciência e competência em orientar este trabalho, deus me deu de presente, e eu **DEDICO** este trabalho a ela.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus e a Nossa Senhora que me proporcionaram saúde, sabedoria, força e por terem me abençoado com pessoas maravilhosas que tornaram esta etapa da minha e sonho possíveis.

Aos meus pais, Carlos Taiobo e Francisca Grande, por serem as pessoa que me motivaram na busca dos sonhos, pelo esforço, coragem amor e apoio moral, mas, principalmente e conviveram com minha ausência durante este período fora dos seus braços.

Aos meus irmãos Jose Carlos e Mariza Carlos pela amizade, companheirismo na vida. Deus nos fez tão diferente, mas é isto que nos completa. Aos meus irmãos que descasam na paz do senhor nomeadamente Renato Carlos, Carolina Carlos e Antônio Carlos, que cedo partiram deste mundo e não poderão presenciar os resultados deste trabalho vai uma dedicação póstuma.

À minha namorada, esposa, amiga e companheira em todos os momentos - a Rosária pelo amor, carinho, confiança e que mesmo longe sempre se mostrou presente.

Ao Antigo Ministro de Indústria e Comércio de Moçambique Armando Inroga, aos amigos e colegas da DEPIC/SOFALA em nome de Matsinhe e Calicoca, pelo apoio moral, incentivo e pela amizade, carinho e pelos conselhos, que mesmo distantes estiveram sempre presentes na minha vida acadêmica neste percurso no Brasil.

À minha orientadora, Érika Cristina Cren, pela dedicação, esforço, disponibilidade, principalmente pela paciência e competência em orientar este trabalho, deus me deu de presente!

Aos companheiros do Laboratório de Termodinâmica Aplicada a Processo do DEQ/UFMG, em especial a, Fabiana, Marcos Roberto, Pedro Prates, Keila Rodrigues, Iara Bolina, Priscila vocês tornaram esta caminhada possível e mais feliz.

Aos professores e funcionários do DEQ-UFMG, Coordenação do Programa de pós-graduação de Engenharia química, aqui representadas por Professora Vanessa e Éder Domingos, a secretaria da pós-graduação pela recepção e acolhimento para que eu me sentisse em casa mesmo longe da minha família, e pelos ensinamentos, conselhos durante a minha vivencia em Minas Gerais.

Ao Laboratório de Físico Química da escola de Veterinária da UFMG nas pessoas Marcos Antônio e Professora Doutora Claudia pela disponibilização do espaço, dos ensinamentos e oportunidade na realização e desenvolvimento do meu trabalho.

Ao CNPQ, FAPEMIG, CAPES e ao Departamento de Engenharia Química da UFMG pela concessão da bolsa de estudos e apoio financeiro para realização do presente trabalho.

RESUMO

O aumento da demanda por combustíveis alternativos e sustentáveis, como o biodiesel, vem promovendo a diversificação e o aumento da produção de oleaginosas, a fim de abastecer os diferentes setores industriais que empregam os óleos vegetais como matéria prima. Um importante impacto gerado pelo aumento da demanda por óleos vegetais é a geração de resíduos associado ao processamento das oleaginosas, como as tortas e farelos. Embora algumas unidades de processamento estejam preparadas e dotadas de tecnologias para o aproveitamento integral de toda a matéria prima, como no caso da soja e girassol, a maioria das oleaginosas emergentes, como a macaúba, não possui uma cadeia produtiva sustentável e eficiente que levaria ao aproveitamento total dos potenciais da matéria prima. Contudo, os farelos obtidos a partir do processamento de óleos possuem uma apreciável composição em biomoléculas de interesse industrial, como as proteínas, fibras e carboidratos. Neste sentido, com o objetivo de agregar valor aos farelos das oleaginosas, assim como diversificar seu uso, principalmente quanto ao aproveitamento do potencial em gerar produtos de alto valor agregado, com diferentes aplicações, o presente trabalho propõe investigar processos para a extração de proteínas a partir de farelos de polpa e amêndoa de macaúba. Paralelamente, a extração de proteínas de farelo de amendoim também foi investigada, como forma de comparação, uma vez que esta oleaginosa é apontada como uma importante fonte de proteínas vegetais. Desta forma, o presente trabalho contempla estudos que avaliam a solubilidade das proteínas em diferentes condições de pH e na presença de sais mono e bivalentes. Nestes estudos, os farelos da amêndoa e amendoim mostraram perfil de solubilidade similares, sendo observado perfil um pouco distinto para as proteínas do farelo de polpa, onde a solubilidade é satisfatória em ampla faixa de pH. De um modo geral, a região alcalina de pH favorece a solubilidade das proteínas dos farelos. Soluções salinas de baixa concentração podem melhorar a solubilidade das proteínas. O trabalho ainda contempla o estudo estatístico de otimização de parâmetros de processo para maximização da extração de proteínas em sistemas em batelada, sendo empregada a metodologia de planejamento experimental composto central, com análise de superfície de resposta. Os processos de extração por via química e enzimática foram investigados, sendo obtidos rendimentos de extração acima de 65%. A extração enzimática demonstrou melhor desempenho. Por fim, com o objetivo de delinear o comportamento de transferência de massa e termodinâmico do processo de extração de proteínas, apresentam-se estudos cinéticos da extração de proteínas em diferentes condições de processo, sendo empregados 3 diferentes modelos matemáticos, a saber, modelo cinético de dois estágios, modelo cinético de segunda ordem e modelo de difusão intrapartícula, para descrição do processo de extração sólido-líquido através de parâmetros de transferência de massa. Todos os modelos foram adequados para a descrição do processo de extração. Os parâmetros cinéticos e termodinâmicos foram similares aos encontrados na literatura para a extração de diferentes biomoléculas de matrizes vegetais, apresentando-se como um processo favorável e espontâneo.

Palavras Chaves: Proteínas vegetais, farelos de oleaginosas, macaúba, amendoim, extração sólido-líquido, cinética.

ABSTRACT

The increased demand for alternative and sustainable fuels, such as biodiesel, has been promoting the diversification and increased production of oilseeds in order to supply the different industrial sectors that use vegetable oils as feedstock. An important impact generated by increasing demand for vegetable oils is the generation of waste associated with the processing of oilseeds, such as pies and sharps. Although some processing units they are repaired and equipped with technologies to take full advantage of all the raw material such as soybean and sunflower, most emerging oilseeds as macaúba lack a sustainable and efficient production chain that leads to the full use of the potential of the raw material. However, the bran obtained from the oils processing have an appreciable composition of industrial interest biomolecules such as proteins, carbohydrates and fibers. In this sense, in order to add value to brans of oilseeds, as well as diversify its use, especially regarding the use of the potential to generate high value-added products with different applications, this paper proposes to investigate processes for protein extraction from sharps of pulp and kernel of macaúba. Similarly, extraction of peanut meal protein was also investigated as a way of comparison, since this oilseed is considered as an important source of vegetable protein. Thus, this work includes studies evaluating the solubility of proteins in different conditions of pH and the presence of mono and divalent salts. In these studies, the sharps of kernel of macaúba and sharps of peanut showed similar solubility profile, being observed profile a little different for the pulp bran protein, where solubility is satisfactory in wide range of pH. In general, the alkaline pH region promotes the solubility of proteins of sharps. salt solutions of low concentration can improve the protein solubility. The work also includes the statistical analysis and optimization of process parameters for maximizing protein extraction systems in batch using the central composite design methodology, with response surface analysis. The extraction process by chemical and enzymatic pathway were investigated, obtaining extraction yields of at least 65%. Enzymatic extraction showed better performance. Finally, with the purpose of outlining the mass transfer behavior and thermodynamic proteins extraction process, the paper presents kinetic studies of protein extract at different process conditions and were employed three different mathematical models, namely kinetic model two-stage, second-order kinetic model and model intraparticle diffusion for describing the solid-liquid extraction process through mass transfer parameters. All models were suitable for the description of the extraction process. The kinetic and thermodynamic parameters were similar to those found in the literature for the extraction of different biomolecules of vegetable matrices, presenting itself as a favorable and spontaneous process.

Key words: Vegetable proteins, oilseeds sharps, macaúba, peanuts, solid-liquid extraction, kinetics

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Frutos de macaúba e suas principais partes constituintes.....	33
Figura 2: Curva típica da solubilidade de proteínas vegetais (Adaptado a partir de DAMODARAN <i>et al.</i> , 2010).	44
Figura 3- Ensaio de solubilização de proteínas.	59
Figura 4: (A) farelo de amendoim, (B) farelo da polpa de macaúba e (C) farelo da amêndoa de macaúba. (Fonte: Fotos do Arquivo do autor).	62
Figura 5 - Curvas de Solubilidade para as proteínas do farelo de amendoim em diferentes concentrações salinas e pH.....	65
Figura 6 - Curvas de Solubilidade para as proteínas do farelo de amendoim de macaúba em diferentes concentrações salina e pH.....	68
Figura 7 - Curvas de Solubilidade para as proteínas do farelo de polpa de macaúba em diferentes concentrações salina e pH.	70
Figura 8- Comparativo da solubilidade das proteínas dos farelos de amendoim, polpa e amêndoa da macaúba em diferentes soluções salinas e concentrações. ...	75
Figura 9 - Diagrama de Pareto para os efeitos dos parâmetros de processo na extração de proteínas do farelo de amendoim, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.	94
Figura 10 - Intensidade e tendência da influência da variação dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração.	95
Figura 11 - Diagrama de Pareto para os efeitos dos parâmetros de processo na extração de proteínas do farelo de amêndoa, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.	98
Figura 12 - Intensidade e tendência da influência da variação dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração.	100
Figura 13 - Diagrama de Pareto para os efeitos dos parâmetros de processo na extração de proteínas do farelo de polpa, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.	103
Figura 14 - Intensidade e tendência da influência da variação dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração.	105
Figura 15- Relação entre os dados de rendimento de extração experimental e preditos pelo modelo	111
Figura 16- Superfície de resposta para o rendimento de extração de proteínas do farelo de amendoim (R1) em função dos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH.	112
Figura 17- Relação entre os dados de rendimento de extração experimental e preditos pelo modelo	117
Figura 18 - Superfície de resposta para o rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba em função dos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH.....	118
Figura 19- Relação entre dados do rendimento experimental e preditos pelo modelo de segunda ordem para proteínas da polpa de macaúba	123
Figura 20 - Superfície de resposta para o rendimento de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba(R3) em função dos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH.....	124
Figura 21- Representação das etapas rápida e lenta do processo de extração sólido-líquido descrito pelo modelo de difusão intrapartícula, segundo (CHAN <i>et al.</i> , 2014)	151

Figura 22- Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amendoim em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³	162
Figura 23- Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amendoim nas temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C	163
Figura 24- Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba nas concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³	164
Figura 25- Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba nas temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C	165
Figura 26- Curva cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo da polpa de macauba em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³	166
Figura 27- Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo da polpa de macaúba em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C	167
Figura 28- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—)	174
Figura 29- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—)	177
Figura 30- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macauba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—)	182
Figura 31- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—)	185
Figura 32 - Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macauba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—)	189
Figura 33- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—)	191
Figura 34- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—)	196
Figura 35- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—)	199
Figura 36- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—)	203

Figura 37- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).	205
Figura 38- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).	208
Figura 39- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).	210
Figura 40 – Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).	215
Figura 41- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).	217
Figura 42- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).	220
Figura 43- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).	222
Figura 44- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm ⁻³ , (◆) 0,02 mol.dm ⁻³ , (+) 0,04 mol.dm ⁻³ e (■) 0,06 mol.dm ⁻³ . Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944)(—).	226
Figura 45- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).	228
Figura 46- Ajuste do modelo termodinâmico de extração de proteínas a diferentes temperaturas, para os farelos de amendoim.	231
Figura 47- Ajuste do modelo termodinâmico de extração de proteínas a diferentes temperaturas, para os farelos da amêndoa de macaúba.	231
Figura 48-Ajuste do modelo termodinâmico de extração de proteínas a diferentes temperaturas, para os farelos da polpa de macaúba.	232
Figura 49-Esquema proposto do processo de extração de proteínas e obtenção de hidrolisado proteico.	261
Figura 50 Diagrama de Pareto para efeitos dos parâmetros investigados na extração enzimática de proteínas do farelo de amendoim.	268
Figura 51- Relação entre os valores de rendimento preditos pelo modelo e os valores experimentais	272
Figura 52 Superfície de resposta do rendimento(R1) em função dos parâmetros razão sólido: solução (X1) e quantidade de enzima (X2).	274
Figura 53-Superfície de resposta para o rendimento (R) em função dos parâmetros razão sólido: solução (X1) e temperatura (X3).	275

Figura 54 Superfície de resposta para o rendimento (Y) em função dos parâmetros temperatura (X3) e quantidade de enzima (X2).	276
Figura 55- Diagrama de Pareto para efeitos dos parâmetros investigados na extração enzimática das proteínas do farelo de amêndoa de macaúba	277
Figura 56 - Relação entre os valores de rendimento preditos pelo modelo os valores experimentais.	282
Figura 57- Superfície de resposta para o rendimento (R2) em função dos parâmetros razão de sólido:solução (X1) e quantidade de enzima (X2).	284
Figura 58- Superfície de resposta para o rendimento de extração (Y) em função dos parâmetros razão sólido:solução (X1) e temperatura (X3).	285
Figura 59- Superfície de resposta para o rendimento de extração (Y) em relação aos parâmetros (X3) temperatura e (X2) quantidade de enzima.	287

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados comparativos de indicadores sobre nutrição mundial, no Brasil e em Moçambique.....	15
Tabela 2 - Teor de aminoácidos essenciais presentes nos farelos da polpa e amêndoa de macaúba, de amendoim e de soja.....	22
Tabela 3 -Propriedades funcionais tecnológicas dos principais ingredientes derivado de proteína de soja e suas aplicações na indústria de alimentos.....	25
Tabela 4 - Produtividades médias no Brasil em óleos, farelos e proteínas associadas à diferentes oleaginosas. Valores expressos em base seca.	26
Tabela 5 - Composição centesimal do amendoim.e farelo de amendoim na base seca.....	29
Tabela 6 Composição centesimal (%) em base seca da polpa e amêndoa de macaúba e do grão de soja	33
Tabela 7 Composição centesimal, em base seca, dos farelos da polpa e amêndoa de macaúba e farelos de soja	36
Tabela 8 - Caracterização granulométrica dos diferentes farelos.	61
Tabela 9 - Composição centesimal dos farelos (% m/m em base seca).	63
Tabela 10 - Composição centesimal para farelos de macaúba segundo diferentes autores, dados expressos em (%m/m base seca).....	64
Tabela 11 - Solubilidade de proteínas (S%) para os farelos em diferentes tipos de soluções salinas	73
Tabela 12- Parâmetros do planejamento experimental e respetivos níveis de estudo.	88
Tabela 13- Matriz do planejamento experimental com as combinações empregadas em cada ensaio.	88
Tabela 14- Rendimento de proteína extraída para os ensaios do planejamentos experimentais 2 ⁴	91
Tabela 15 - Efeitos dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração obtido com base no planejamento experimental 2 ⁴ para o farelo de amendoim.	93
Tabela 16 - Efeitos dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração obtido com base no planejamento experimental 2 ⁴ para o farelo de amêndoa	97
Tabela 17 - Efeitos dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração obtido com base no planejamento experimental 2 ⁴ para o farelo de polpa	101
Tabela 18- Planejamento composto central 2 ² com as variáveis reais e codificadas.	107
Tabela 19 – Rendimento de extração de proteínas a partir do farelo de amendoim.	108
Tabela 20 - ANOVA aplicada ao planejamento composto central para o estudo de extração de proteínas do farelo de amendoim	109
Tabela 21- Rendimento de extração de proteínas a partir do farelo de amêndoa de macaúba.....	114
Tabela 22- ANOVA aplicada ao planejamento composto central para o estudo de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba	115
Tabela 23- Rendimento de extração de proteínas a partir do farelo de polpa de macaúba.....	120
Tabela 24- ANOVA aplicada ao planejamento composto central para o estudo de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba.	121
Tabela 25- Parametros do processo de extração química de proteínas otimizados e os respectivos rendimentos máximos experimental e predito.	126

Tabela 26-Trabalhos da literatura que empregaram os modelos cinéticos de primeira ordem, dois estágios, segunda ordem e de difusão na descrição da extração solido-liquido.....	137
Tabela 27 Parametros de ajuste do modelo cinético de dois estágios em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para o farelo de amendoim.....	170
Tabela 28- Parametros de ajuste do modelo cinético de dois estágios em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para o farelo de amêndoa de macaúba.....	179
Tabela 29- Parametros de ajuste do modelo cinético de dois estágios em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para o farelo de polpa de macaúba.....	186
Tabela 30- Parametros de ajuste do modelo cinético de segunda ordem em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para a extração de proteínas do farelo de amendoim.....	194
Tabela 31- Parametros de ajuste do modelo cinético de segunda ordem em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba.....	200
Tabela 32- Parametros de ajuste do modelo cinético de segunda ordem em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba.....	206
Tabela 33-Parametros de ajuste do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) em função da concentração de sal na solução de extração e da temperatura para a extração de proteínas do farelo de amendoim.....	213
Tabela 34- Parametros de ajuste do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) em função da concentração de sal na solução de extração e da temperatura para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba.....	218
Tabela 35- Parametros de ajuste do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) em função da concentração de sal na solução de extração e da temperatura para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba.....	224
Tabela 36- Valores de Ke para diferentes temperaturas investigadas para farelos de amendoim, de amendoa e polpa de macaúba.....	230
Tabela 37- Parâmetros termodinâmicos da extração de proteínas dos farelos de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba.....	232
Tabela 38- Parâmetros termodinâmicos encontrados na literatura para a extração solido-liquido de biocomponentes a partir de matrizes vegetais.....	234
Tabela 39- Parâmetros do planejamento experimental completo 2 ³ incluindo pontos centrais e axiais.....	263
Tabela 40- Ensaio do planejamento composto central com pontos centrais e axiais.....	264
Tabela 41-Rendimento da extração de proteínas assistida por enzimas para os farelos de amendoim e amêndoa de macaúba.....	266
Tabela 42- ANOVA do modelo de segunda ordem e dos seus coeficientes para o rendimento de extração de proteínas do farelo de amendoim.....	270
Tabela 43- ANOVA do modelo de segunda ordem e dos coeficientes para o rendimento da extração assistida por enzimas nos farelos de amêndoa de macaúba.....	279
Tabela 44- Rendimento de extração enzimática de proteínas, experimental e predito.....	289

Tabela 45 – Rendimentos maximizados de extração de proteínas dos farelos de amendoim e amêndoa de macaúba por via química e enzimática.....	290
---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Área superficial da partícula (m^2)
C	Concentração ($mol.dm^{-3}$)
C_A	Concentração de um componente determinado (A) ($mol.dm^{-3}$)
C_{AO}	Concentração inicial do componente A ($mol.dm^{-3}$)
C_e	Concentração de equilíbrio ($mol.dm^{-3}$)
C_{AS1}	Concentração de soluto na solução, na condição de equilíbrio na etapa de lavagem ($mol.dm^{-3}$)
C_{AS2}	Concentração de soluto na solução, na condição de equilíbrio na etapa de difusão ($mol.dm^{-3}$)
Da	Dalton(Unidade de massa atômica)
D1	Coeficiente de difusividade na etapa de lavagem (m^2s^{-1})
D2	Coeficiente de difusividade na etapa de difusão (m^2s^{-1})
Def	Coeficiente de difusão efetivo (m^2s^{-1})
ΔG	Energia Livre de Gibbs ($J.mol^{-1}$ ou $kJ.mol^{-1}$)
ΔH	Energia total do sistema que pode ser trocada ($J.mol^{-1}$ ou $kJ.mol^{-1}$)
ΔS	Entropia do sistema ($J.K^{-1}.mol^{-1}$)
ΔU	Energia interna do sistema ($J.mol^{-1}$ ou $kJ.mol^{-1}$)
f_1	Fração do soluto na fase de lavagem
FA	Fibra Alimentar
FAO	Organização das nações unidas para alimentação e agricultura do termo em inglês <i>Food and Agriculture Organization</i>
$FCal$	Valor do teste de Fisher calculado
$Fo=Ftab$	Valor do teste de Fisher tabelado
FI	Fibra insolúvel
FS	Fibra solúvel
h	Taxa inicial de extração ($mg.g^{-1}min^{-1}$)
k	Constante cinética de extração para modelo de segunda ordem ($g.mg^{-1}min^{-1}$),
k1	Constante cinética na etapa de lavagem(min^{-1})
k2	Constante cinética na etapa de difusão (min^{-1})
K_L	Coeficiente convectivo de transferência de massa (m/s)
N_A	Fluxo molar de transferência de massa ($mg.g^{-1}.s^{-1}$)
pI	Ponto isoelétrico
R	Raio da partícula (m)
R(t)	Rendimento do processo (%)
R_{as}	Rendimento de equilíbrio máximo (%)
RMSE	Root-Mean-Square Error (ou raiz quadrada do erro quadrático médio)
t	Tempo (em segundos ou em minutos)
T	Temperatura em unidades absolutas(K)
V	Volume total do sistema sólido-líquido (dm^3)

SUMÁRIO

CAPITULO I: INTRODUÇÃO GERAL.....	3
1.INTRODUÇÃO	4
2. JUSTIFICATIVA	9
3. HIPÓTESE DEFENDIDA.....	10
4. OBJETIVOS DO TRABALHO.....	11
4.1. OBJETIVO GERAL	11
4.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
5. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	12
5.1. A PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS	12
5.2 DEMANDA POR ALIMENTOS X DESPERDÍCIO X PRODUÇÃO DE ALIMENTOS	14
5.3. TIPOS E QUALIDADE DAS PROTEÍNAS DE ORIGEM VEGETAL.....	18
5.4. PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS TECNOLÓGICAS DAS PROTEÍNAS	23
5.4. PRINCIPAIS FONTES OLEAGINOSAS DE USO INDUSTRIAL.....	26
5.4.1. Amendoim e seu potencial como fonte proteica.....	28
5.4.2. Macaúba [<i>Acrocomia Aculeata (Jacq) Lodd. Ex.Mart</i>] como fonte alternativa de óleos e proteínas vegetais.....	31
CAPITULO II: ESTUDO DA SOLUBILIDADE NA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS ...	39
1. INTRODUÇÃO	40
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	41
2.1. SOLUBILIDADE DE PROTEÍNAS - IMPORTÂNCIA NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO	41
2.2. EFEITO DO MEIO SOBRE A SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS	42
2.2.1 Efeito do pH.....	43
2.2.2 Efeito da força iônica e da Concentração salina	45
2.2.3 Efeito da Temperatura.....	46
2.3. ESTABILIDADE DE SISTEMAS COLOIDAIIS	47
2.4. CLASSIFICAÇÃO DAS PROTEÍNAS VEGETAIS QUANTO A SOLUBILIDADE EM DIFERENTES SOLVENTES.....	49
3.OBJETIVOS	55
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
4.1. MATERIAIS	56
4.1.1 Matéria prima	56
4.1.2 Reagentes	56
4.2. MÉTODOS	57
4.2.1 Caracterização granulométrica dos farelos	57
4.2.2 Caraterização Centesimal dos farelos.....	57
4.2.3 Ensaio de solubilidade para as proteínas dos farelos – curva de solubilidade e efeito de diferentes tipos de sais	58
5.RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
5.1.CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA	61
5.1.1 Caracterização granulométrica dos farelos	61
5.1.2 Caracterização centesimal dos farelos.....	62
5.1.3. Curvas de Solubilidade para as proteínas dos farelos	65
5.1.4. Estudo da influência de diferentes sais na solubilidade de proteínas	72
6. CONCLUSÃO.....	77

CAPITULO III: OTIMIZAÇÃO DE FATORES QUE INFLUENCIAM A EXTRAÇÃO QUÍMICA DE PROTEÍNAS	79
1. INTRODUÇÃO	80
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	81
2.1. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL NO ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS	81
2.2. EXTRAÇÃO QUÍMICA DE PROTEÍNAS	82
3. OBJETIVOS	86
4. MATÉRIAS E MÉTODOS	87
4.1. MATÉRIAS	87
4.2. MÉTODOS	87
4.2.1 Planejamento experimental estatístico	87
4.2.2 Ensaio de Extração de proteínas dos farelos	89
4.2.3 Tratamento estatístico dos dados	89
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	91
5.1. ENSAIOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL 2 ⁴ - AVALIAÇÃO DE EFEITOS DOS PARÂMETROS DE PROCESSO	91
5.1.1 Farelo de amendoim.....	92
5.1.2 Farelo de amêndoa de macaúba.....	96
5.1.3 Farelos da polpa de macaúba	101
5.2. ENSAIOS DE OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE PROCESSO E ANÁLISE DOS RESULTADOS PELA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA	106
5.2.1 Farelo de Amendoim	107
5.2.2 Farelo da Amêndoa de Macaúba	113
5.2.3 Farelo da polpa de macaúba.....	119
5.3. CONFIRMAÇÃO E VALIDAÇÃO DE RESULTADOS.....	125
6. CONCLUSÃO	127
CAPITULO IV: ESTUDO CINÉTICO DE TRANSFERÊNCIA DE MASSA E TERMODINÂMICA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS	128
1. INTRODUÇÃO	129
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	131
2.1. EXTRAÇÃO SÓLIDO - LÍQUIDO (LIXIVIAÇÃO).....	131
2.2. FATORES QUE INFLUENCIAM A TRANSFERÊNCIA DE MASSA E A CINÉTICA NA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS	132
2.2.1 Tamanho de partícula e razão sólido:solvente	133
2.2.2 Tipo de solvente de extração (força iônica, concentração e pH da solução)..	134
2.2.3 Temperatura.....	135
2.3 MODELAGEM MATEMÁTICA DA CINÉTICA E TRANSFERÊNCIA DE MASSA NA EXTRAÇÃO SÓLIDO – LÍQUIDO	136
2.3.1 Modelo cinético de primeira ordem	137
2.3.2. Modelo Cinético de dois Estágios (<i>Two-stage kinetic model</i>).....	141
2.3.3. Modelo cinético de segunda ordem.....	144
2.3.4. Modelo de transferência de massa difusivo proposto por Osbourne e Katz (1944).....	148
2.3. 5. Termodinâmica do processo de extração sólido-líquido.....	153
3. OBJETIVOS	157
4. MATERIAL E MÉTODOS	158
4.1. MATERIAL	158
4.2. MÉTODOS	158

4.2.1 Ensaio cinéticos de extração de proteínas dos farelos.....	158
4.2.2. Tratamento dos dados experimentais	159
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.	162
5.1. DADOS CINÉTICOS DA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DOS FARELOS DE AMENDOIM, DE POLPA E DE AMÊNDOA DE MACAÚBA	162
5.2. MODELAGEM DOS DADOS EXPERIMENTAIS CINÉTICOS UTILIZANDO O MODELO CINÉTICO DE DOIS ESTÁGIOS (<i>TWO SITE KINETIC MODEL</i>)	169
5.2.1 Farelo de Amendoim	170
5.2.2 Farelo de Amêndoa de Macaúba	178
5.2.3 Farelo da Polpa de macaúba	186
5.3 MODELAGEM DOS DADOS EXPERIMENTAIS CINÉTICOS UTILIZANDO O MODELO CINÉTICO DE SEGUNDA ORDEM.....	193
5.3.1 Farelo de amendoim.....	193
5.3.2 Farelo da amêndoa de macaúba.....	200
5.3.3 Farelo da polpa de macaúba.....	206
5.4. MODELAGEM DOS DADOS EXPERIMENTAIS CINÉTICOS UTILIZANDO O MODELO PROPOSTO POR OSBOURN E KATZ (1944).....	212
5.4.1 Farelo de amendoim.....	212
5.4.2 Farelo de amêndoa de macaúba.....	218
5.4.3 Farelo da polpa de macaúba.....	224
5.5. MODELAGEM TERMODINÂMICA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA.....	229
6. CONCLUSÃO.....	236
CAPITULO V: EXTRAÇÃO AQUOSA DE PROTEÍNAS ASSISTIDA POR ENZIMAS NOS FARELOS DE AMENDOIM E AMÊNDOA DE MACAÚBA	238
1.INTRODUÇÃO	239
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	242
2.1.ENZIMAS E SUA UTILIDADE EM PROCESSOS INDUSTRIAIS	242
2.2. INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FATORES NA EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ENZIMAS.....	248
2.2.1 Tamanho das partículas	248
2.2.2 pH	249
2.2.3 Temperatura.....	250
2.2.4 Razão sólido:solução extratora	251
2.2.5 Proporção enzima:substrato e tempo de incubação	251
2.3. ALGUMAS PROTEASES USADAS NO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS	252
3. OBJETIVOS	259
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	260
4.1. MATERIAIS	260
4.2. MÉTODOS	260
4.2.1 Processo de extração e hidrólise enzimática de proteínas dos farelos de amêndoa de macaúba e amendoim	260
4.2.2. Planejamento experimental empregado nos estudos de extração enzimática de proteínas	263
4.2.3 Tratamento Estatístico.....	264
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	266

5.1. RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS ASSISTIDA POR ENZIMAS NOS FARELOS DE AMENDOIM E AMÊNDOA DE MACAÚBA.	266
5.2 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS ENSAIOS DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA A EXTRAÇÃO ENZIMÁTICA DE PROTEÍNAS	268
5.2.1 Extração enzimática de proteínas a partir do farelo de Amendoim	268
5.2.2 Extração enzimática de proteínas a partir do farelo de amêndoa de macaúba	277
5.2.3 Ensaio para confirmação do rendimento maximizado nas condições ótimas determinadas para os parâmetros de processo	288
5.2.4 Comparação dos resultados para a extração química e enzimática de proteínas.....	290
6.CONCLUSÃO.....	293
7.CONCLUSÃO GERAL	295
8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	298
REFERÊNCIAS	299
ANEXOS.....	323

Estrutura do trabalho

O presente trabalho foi dividido em capítulos. No **capítulo I**, foi feita uma abordagem sobre a motivação, descrição do problema abordado e os objetivos gerais e específicos do trabalho, sendo apresentada uma breve descrição do cenário mundial sobre a produção e demanda por matérias primas oleaginosas e seus impactos. O capítulo ainda faz um comparativo das potencialidades do amendoim e da macaúba, sugerindo a necessidade de um aproveitamento integral das matérias primas, além da necessidade de tornar os sistemas produtivos industriais e agrícolas sustentáveis e eficientes, visando o mínimo desperdício e a valorização dos resíduos agroindustriais, destacando a importância das proteínas de origem vegetal, principalmente as obtidas do amendoim e alternativamente da macaúba. O **capítulo II** apresenta a caracterização dos farelos utilizados e o estudo de solubilidade das proteínas presentes nos farelos, em diferentes condições de pH e na presença de diferentes sais. O rendimento de extração ou de proteínas solubilizadas foi o parâmetro avaliado neste estudo, sendo possível obter as curvas de solubilidade para as proteínas vegetais que compõem os farelos de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba, frente diferentes características da solução aquosa de extração. No **capítulo III**, é apresentado o estudo dos efeitos dos parâmetros de processo na extração química de proteínas para os diferentes farelos, usando o planejamento fatorial completo 2^4 , com 3 pontos centrais, sendo investigada a variação em 2 níveis dos seguintes parâmetros de processo, pH, temperatura, razão sólido:solução, concentração salina da solução. Considerando os efeitos significativos, a otimização dos parâmetros para a maximização do rendimento de extração foi realizada empregando-se o planejamento composto central, com análise por superfície de resposta. No **capítulo IV**, considerando os efeitos dos parâmetros de processo sobre a extração química de proteínas, um estudo da cinética de extração de proteínas dos farelos foi realizado. Os dados experimentais foram utilizados para ajustar modelos cinéticos de transferência de massa e termodinâmico, que descrevem o comportamento do processo de extração sólido-líquido. A abordagem cinética do processo de extração de proteínas é escassa na literatura, deste modo, os resultados obtidos são relevantes, a fim de fornecer informações importantes quanto a parâmetros de transferência de massa e termodinâmicos que viabilizam a construção de equipamento e o aprimoramento do processo de extração sólido-

líquido de proteínas. Por fim, o **capítulo V** trata do estudo da extração de proteínas empregando enzimas (proteases). O estudo foi conduzido empregando os farelos de amendoim e amêndoa de macaúba. Um planejamento experimental 2^3 foi empregado para avaliar o efeito da variação dos parâmetros de processo, temperatura, proporção sólido:solução e quantidade de enzima, no rendimento de extração. A metodologia de superfície de resposta foi empregada a fim de otimizar os parâmetros de processo na extração enzimática. Uma comparação com os resultados obtidos na extração química de proteínas foi realizado.

CAPITULO I: INTRODUÇÃO GERAL

1.INTRODUÇÃO

O aumento da demanda por combustíveis renováveis, como o biodiesel e o etanol, visando diminuir dependência econômica pelo petróleo, trouxe a necessidade do aumento na produção de óleos vegetais. Este aumento exige, por sua vez, o cultivo diversificado de fontes oleaginosas, conseqüentemente, o aumento de terras para sua produção, aumento do consumo de água e uma ameaça à diversidade ecológica e do meio ambiente. Uma consequência imediata que surgiu na cadeia agroindustrial de oleaginosas é a geração de biomassas como cascas, palha, tortas e farelos em grandes quantidades (AIKING, 2011; BALBINOT, 2007).

Os resíduos gerados na extração de óleos vegetais na maioria das vezes não são aproveitados convenientemente, o que gera elevadas perdas no processo produtivo, com impacto na viabilidade econômica da unidade industrial (SARI, 2015; VERONEZI & JORGE, 2012).

Uma das formas de viabilizar o uso eficiente das matérias primas agroindustriais e diminuir a competição entre produção de alimentos e de biocombustíveis é a minimização das perdas e o aproveitamento dos potenciais subprodutos gerados ao longo da cadeia produtiva ou de processamento. No processamento das oleaginosas, o aproveitamento integral da biomassa é apontado como uma contribuição não apenas para a segurança alimentar global, mas também responde aos desafios de uso sustentável dos recursos, que implicitamente significa a valorização da matéria prima em cada etapa do seu processamento e aproveitamento, visando cada vez mais o uso integral das matérias primas agroindústrias, resultando em uma agroindústria sustentável (BOND *et al.*, 2013; SARI, 2015; VON DER HAAR *et al.*, 2014).

Neste sentido, com o intuito de resolver o problema da geração de elevadas quantidades de resíduos, principalmente de farelos, na cadeia de processamento de óleos vegetais, este sistema produtivo vem se estruturando com base no conceito de biorrefinarias - um sistema de produção industrial sustentável de aproveitamento integral da matéria prima renovável que e de valoriza os subprodutos e resíduos gerados no processamento, o que resulta em diversos produtos Concomitantemente,

os recursos como água, energia e o solo são utilizados de forma mais eficiente, além de reduzir os impactos ambientais do descarte inadequado dos resíduos da cadeia de oleaginosas (SARI, 2015; VON DER HAAR *et al.*, 2014; ROSA *et al.*, 2011).

Especificamente no Brasil, as políticas públicas como a Lei 11.097/2005, que incentiva a inserção de biodiesel na matriz energética brasileira, através da adição de biodiesel ao diesel convencional, nas proporções chamadas B3, B5 e agora B10, trouxe como consequência direta a necessidade de se buscar fontes oleaginosas alternativas para a produção de biodiesel, que sejam baratas e garantam alta produtividade em óleos, sem competir com a produção de alimentos.

Neste mesmo sentido, a Lei Estadual nº 19.485, de 13 de janeiro de 2011, incentiva no Estado de Minas Gerais, o cultivo e exploração da palmeira macaúba, uma oleaginosa bastante presente no estado e que vem sendo apontada como promissora para a produção de biodiesel.

Esta lei surge como uma política pública para incentivar o desenvolvimento econômico e social do estado, onde o cultivo, a extração, a comercialização, o consumo e transformação da macaúba e demais palmeiras oleaginosas, são alvos de ações que buscam desenvolver uma cadeia produtiva eficiente e consolidada, para aproveitamento integral das oleaginosas alternativas, inserindo-as no agronegócio brasileiro. Dentre as ações descritas na lei de incentivo destacam-se:

- O desenvolvimento de sistemas de produção, priorizando o zoneamento agroclimático, o melhoramento genético, a produção de mudas, o plantio, o manejo, a colheita e a pós-colheita;
- O processamento, transporte, industrialização e a comercialização dos produtos, coprodutos e derivados;
- Incentivar à inovação, ao desenvolvimento e a obtenção de novos processos e produtos para a indústria;
- Realização de levantamento de aspectos culturais e folclóricos relacionados com a macaúba e as demais palmeiras oleaginosas; e

- Identificação de componentes nutricionais e medicinais da macaúba e das demais palmeiras oleaginosas.

É possível perceber que as ações incentivadas pelo estado não objetivam somente a extração de óleos vegetais e a produção de biodiesel, mas a implantação de uma agroindústria sustentável, com aproveitamento integral da matéria prima oleaginosa, gerando diversificação de produtos, valor agregado à matéria prima, integrando produtor rural extrativista e indústria, com ganhos sociais e econômicos.

Logo, a busca por fontes de proteínas alimentares enquadradas na sustentabilidade social, econômica e ambiental, com ganhos para a nutrição animal e humana, e integração dos sistemas de produção agrícola, pecuária e de biocombustíveis tem sido a motivação de muitas pesquisas em torno do aproveitamento e utilização dos subprodutos gerados na cadeia de processamento de oleaginosas, principalmente quanto ao desenvolvimento de processos e produtos (NOBRE *et al.*, 2014; SARI, 2015).

Portanto, o aproveitamento e valorização dos farelos gerados na cadeia de processamento de oleaginosas contribuem para a viabilidade e sustentabilidade na produção de biodiesel, através da diversificação na produção de produtos a partir de uma mesma matéria prima. As proteínas, além de outras biomoléculas presentes nos farelos das oleaginosas são importantes matérias primas para a produção de ingredientes proteicos para a indústria de alimentos, ração, fármacos, cosméticos e produtos químicos intermediários a base de compostos de nitrogênio (ABDALLA *et al.*, 2008; BOMFIM *et al.*, 2009; BOS & SANDERS, 2013; SILVA *et al.*, 2014; ROSA *et al.*, 2011; SIMMONS, 2010; TEXEIRA *et al.*, 2014; WU *et al.*, 2014; YU *et al.*, 2015).

Paralelamente ao aumento da demanda por biocombustíveis, verifica-se também o contínuo crescimento populacional, e, portanto, os impactos sobre o meio ambiente. A população mundial cresce a uma taxa anual de 1,14%, o que corresponde a um aumento de cerca de 80 milhões de pessoas por ano, prevendo-se que em 2050 a população chegará a 9,3 bilhões de pessoas e a procura por alimentos crescerá entre 50 e 70% (SARI, 2015; BOND *et al.*, 2013; FAO, 2014b, SIMMOMS, 2010).

Atualmente, 1 em cada 8 pessoas no mundo estão cronicamente subnutridas, apesar dos esforços de disponibilização dos alimentos, o que aumenta a busca por novas fontes de alimentos proteicos que possam contribuir para um desenvolvimento saudável da população. De acordo com FAO (2014b), para que uma dieta proteica possa minimizar os problemas de subnutrição, a necessidade média diária recomendada é de 57 g/capita/dia, para uma pessoa adulta. Recomenda-se ainda, que 1/3 destas proteínas sejam obtidas de fontes vegetais, com destaque para cereais e leguminosas. Em alguns países em desenvolvimento este valor encontra-se muito abaixo do recomendado, variando entre 1 a 10 g/capita/dia (GHALY & ALKOAİK, 2010, HORAX *et al.*, 2010; SARI, 2015; VON DER HAAR *et al.*, 2014).

Na Ásia e Europa, o consumo de proteínas em 1992 era de 63 e 98 g/capita/dia, respectivamente, e passou em 2009 para 75 e 102 g/capita/dia, sendo a principal fonte destas proteínas de origem animal (SARI, 2015). Apesar de não se verificar mais a falta de alimentos no mundo, persistem ainda problemas de distribuição ou desequilíbrios de produção, sendo que mais de 70% da população afetada pela fome vive em áreas rurais nos países em desenvolvimento, são pessoas de baixa remuneração ou baixa renda, ou são trabalhadores de fazendas ou praticantes de agricultura de subsistência, cuja condição social e econômica é precária, o que impacta na dificuldade para atender uma dieta alimentar equilibrada e adequada (FAO, 2014(b) GHALY & ALKOAİK, 2010).

Por outro lado, cada vez mais a população torna-se exigente quanto a busca por dietas e alimentos mais saudáveis, devido ao desenvolvimento resultante da urbanização e educação (FAO, 2014(b) GHALY & ALKOAİK, 2010; HORAX *et al.*, 2010; NOBRE *et al.*, 2014; PROLA, 2013; TAN *et al.*, 2011; URSU *et al.*, 2014).

No caso particular do Brasil, de acordo com o relatório sobre o estado da insegurança alimentar e nutricional (FAO/BR, 2014), verifica-se que o país já cumpriu o objetivo de reduzir pela metade o número de pessoas vivendo em extrema pobreza até 2015. Segundo o relatório, isso só foi possível devido a articulação de elementos importantes da cadeia alimentar, nomeadamente, a disponibilidade de alimentos que é garantida pela diversificação e aumento da produção, o acesso dos necessitados aos alimentos e a utilização eficiente do potencial dos alimentos.

Portanto, é visando a produção e diversificação de alimentos de qualidade nutricional de base proteica que a indústria assenta vários esforços para o aproveitamento e produção de novos produtos, consolidando assim, os números sobre a segurança alimentar e nutricional, garantindo também um espaço para busca de novas oportunidades.

No entanto, muitos outros países ainda enfrentam problemas sérios relacionados a pobreza e desnutrição, como Moçambique, onde a população enfrenta enormes debilidades em termos de desenvolvimento humano, apesar das melhorias modestas, nos últimos anos, com relação à insegurança alimentar (CUNGUARA *et al.*, 2013; ZIDORA, 2015).

De acordo com as estimativas do país, cerca de 80% da população depende da agricultura como principal fonte de subsistência, sendo um setor crucial na segurança alimentar e na geração de renda familiar, e cerca de 73% vivem em áreas rurais. O setor agrícola não dispõe de infraestrutura para melhorar a produção e produtividade, continuando nos moldes de agricultura familiar e de subsistência. Mesmo assim, o setor representa 99% dos cerca de 3,9 milhões de pequenos produtores, empregando 80% da mão-de-obra ativa e fornecendo 90% dos alimentos disponibilizados à população (CUNGUARA *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2015; ZIDORA, 2015).

2. JUSTIFICATIVA

Os farelos gerados na indústria de processamento de oleaginosas contêm apreciáveis quantidades de proteínas, fibras e carboidratos. Estas biomoléculas quando isoladas possuem diversas aplicações na indústria de alimentos, de fármacos e cosméticos, além da indústria química. Desta forma, visando o aproveitamento integral dos frutos da macaúba e seu potencial como promissora fonte de óleos para produção de biodiesel, o presente trabalho buscou apresentar uma alternativa ao aproveitamento do farelo de macaúba, investigando processos para extração das proteínas da matriz vegetal, a fim de produzir produtos proteicos com alto valor agregado para diferentes fins industriais, contribuindo para o desenvolvimento da agroindústria sustentável da macaúba.

3. HIPÓTESE DEFENDIDA

Extração química e enzimática das proteínas dos farelos de amendoim, polpa e amêndoa da macaúba, viabilizando o aproveitamento dos farelos produzidos na extração de óleos vegetais.

4. OBJETIVOS DO TRABALHO

4.1. Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo geral:

Estudo do processo químico e enzimático para extração de proteínas a partir dos farelos de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba, avaliando a influência dos diferentes parâmetros de processo no rendimento de proteínas, bem como a descrição dos fenômenos cinético e termodinâmico do processo.

4.2. Objetivos específicos

São objetivos específicos do presente trabalho os seguintes:

- ✓ Estudar a influência do pH na solubilidade proteica de diferentes farelos (amendoim, polpa e amêndoa de macaúba) – curvas de solubilidade;
- ✓ Estudar o efeito do uso de diferentes sais, em concentrações diferentes, na solubilidade das proteínas;
- ✓ Estudar o efeito de diferentes variáveis de processo, a saber, pH, temperatura, razão sólido:solução de extração e concentração de sal na solução, no rendimento da extração de proteínas e otimizar os parâmetros de processo para maximização do rendimento – planejamento experimental composto central com análise por superfície de resposta – extração química;
- ✓ Estudar a cinética de extração de proteínas em condições consideradas ótimas, variando a temperatura de processo, a fim de descrever através de modelos cinéticos e termodinâmico o processo de extração – extração química
- ✓ Estudar o efeito de diferentes variáveis de processo, a saber, razão sólido:solução de extração, quantidade de enzima e temperatura, no rendimento da extração de proteínas e otimizar os parâmetros de processo para maximização do rendimento – planejamento experimental composto central com análise por superfície de resposta – extração enzimática;

5. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

5.1. A produção de biocombustíveis

O aumento da demanda mundial por combustíveis renováveis e sustentáveis, como o biodiesel e etanol, a fim de reduzir a dependência econômica do petróleo e os impactos sobre o meio ambiente, trouxe como consequência o início de uma nova fase para o mercado de combustíveis renováveis e produção de óleos vegetais.

No Brasil a produção de biodiesel vem sendo incentivada desde a década 80, mas começou oficialmente em 2005 com aprovação e entrada em vigor do Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel (PNPB), através da Lei 11.097/2005, que normatiza a adição de biodiesel ao diesel convencional nas proporções chamadas, B3, B5 e B10, que correspondem a adição de 3, 5 e 10 % (BERGMANN *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2015).

Em 2005, a produção oficial efetiva contabilizada de biodiesel foi de 736,2 mil litros, menos de 50 % da capacidade nominal instalada, e em 2007 a produção atingiu a marca de 404 mil m³ com a capacidade nominal instalada de cerca de 2 milhões de m³. Com a demanda cada vez mais crescente, a capacidade instalada de produção de biodiesel no país atingiu em 2013, cerca de 8 milhões de litros, contra uma produção real de cerca de 2,9 milhões de m³ neste período (36,4% da capacidade total instalada) (BERGMANN *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2015).

Em 2014, EUA foi o país que ao nível do mundo, produziu e consumiu mais biodiesel com um total de cerca de 5,3 bilhões de litros seguido da Alemanha em segundo e Brasil em terceiro e Argentina em quarto com cerca de 3,1 e 2,9 e 2,3 bilhões de litros de biodiesel. Dados da literatura mostram que a tendência de consumo e produção de biodiesel vai continuar a crescer nos próximos anos. (BERGMANN *et al.*, 2013; FERNANDES *et al.*, 2015, DE SOUSA *et al.*, 2015).

O biodiesel é um combustível produzido a partir de óleos vegetais, gorduras animais ou resíduos de óleos vegetais. É um combustível renovável constituído por uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos que são obtidos a partir das reações de transesterificação e/ou esterificação (TIMM, 2009).

A soja é a principal oleaginosa empregada na produção de biocombustíveis, correspondendo a uma participação de 76,4% em 2013, seguido da gordura animal com 19,8%, óleo de algodão com 2,2% e outras oleaginosas com 1,6%. Do total da soja disponível atualmente no mercado mundial, cerca de 93% é oriundo de 6 países Brasil, EUA, Argentina, China, Índia e Paraguai (BERGMANN *et al.*, 2013; WWF, 2014).

Portanto, diversas ações vêm incentivando a exploração de fontes alternativas de óleos vegetais, a fim de tornar mais eficiente a cadeia produtiva do biodiesel, minimizar o impacto gerado pela demanda por óleos vegetais para a produção de biodiesel, a partir de matrizes tradicionalmente empregadas para produção de óleos para outros fins industriais, como alimentos e explorar o potencial de uso dos resíduos gerados na extração de óleos, principalmente para alimentação humana (LEIVA-CANDIA *et al.*, 2014; WWF, 2014).

Contudo, a escolha das matérias primas como fonte de óleos para produção de biodiesel deve observar critérios não apenas técnicos como a viscosidade do óleo, ponto de fulgor, produtividade, entre outras, mas acima de tudo deve garantir a sustentabilidade do ponto de vista social, econômica e ambiental (BERGMANN *et al.*, 2013, AHMIA *et al.*, 2014).

É neste âmbito que a lei de incentivo a produção de biodiesel atua, visando o desenvolvimento sustentável como um todo, não só na exploração das culturas alternativas de oleaginosas, mas também favorecendo a geração de emprego e renda, reduzindo a emissão de poluentes e nas assimetrias regionais (BERGMANN *et al.*, 2013; TIMM, 2009).

De um modo geral, a extração de óleos vegetais industrialmente pode ocorrer via prensagem mecânica, extração por solvente ou a combinação dos dois métodos. Da extração por prensagem sobra como resíduo a torta, que ainda possui teor de óleo residual que pode ser extraído por solvente, para obter-se o máximo rendimento em óleo. Deste processo obtém-se o farelo, resíduo praticamente livre de óleo, mas rico em biocomponentes, como proteínas e fibras.

No entanto, o aproveitamento destes resíduos contendo importantes nutrientes para alimentação humana é pouco explorado para este fim, o que pode ser uma alternativa para obtenção de ingredientes com propriedades funcionais tecnológicas para suplementação alimentar. Aliás, buscar aproveitamento adequado para estes resíduos é coerente com a demanda da sociedade por alimentos ricos em proteínas e mostra-se como um assunto de grande relevância (MONTEIRO *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2010).

De acordo com HARIENDER (2012), os farelos gerados na extração de óleos vegetais são destinados para produção de ração animal ou adubos, mas possuem potencial para serem empregados na produção de alimentos ou outras matérias primas intermediárias industriais, com alto valor agregado e significativo impacto na viabilidade econômica da unidade industrial e no meio ambiente (MOTA & PESTANA, 2011; VERONEZI & JORGE, 2012).

5.2 Demanda por alimentos x desperdício x produção de alimentos

Segundo a FAO (2013), cerca de 1/3 da produção mundial de alimentos, equivalente a quase 1,3 bilhões de toneladas, são desperdiçados anualmente em todo mundo, sendo que 25% destes seriam suficientes para alimentar os cerca de 842 milhões de famintos, anualmente. Do total das perdas, 54% acontecem na fase de produção, manipulação pós-colheita e armazenagem e 46% ocorrem nas etapas de processamento, distribuição e consumo (FAO, 2013a, FAO, 2013b; SARI, 2015).

O desenvolvimento sustentável é um desafio que se coloca a toda sociedade e aos diferentes setores de produção de bens. A busca por soluções que atendam de forma sustentável as necessidades da população deve também considerar a previsão de escassez dos recursos naturais como água, alimentos, e energia, além do galopante crescimento da população mundial (FAO, 2013b; FAO BR/ 2014; PNUD, 2016; SARI, 2015).

Na Tabela 1 é apresentada a evolução de indicadores referente a nutrição no mundo, no Brasil e Moçambique.

Tabela 1 - Dados comparativos de indicadores sobre nutrição mundial, no Brasil e em Moçambique.

	1992			2014		
	Mundial	Brasil	Moçambique	Mundial	Brasil	Moçambique
População Total (milhões)	5.498,8	154,6	14,3	7.243,7	202,0	26,5
População Rural (milhões)	3.092,9	38	11	3.362,5	29,5	18
Prevalência da fome (%)	18,7	14,8	55,4	11,3	< 5	27,9
Média de Consumo de Proteína (g/cap/dia)	69	67	31	79	86	45
Consumo de proteínas de cereais (%)	50,6	33,2	34,3	34,8	30,7	41,2
Consumo de proteínas animal (g/cap/dia)	24	30	4	31	44	5

Fonte: *Food and Nutrition in Numbers 2014* (FAO, 2014 a).

Conforme se pode observar na Tabela 1, o dado muito discrepante entre o cenário mundial e principalmente de Moçambique destaca que, apesar da prevalência da fome, tem diminuído ao longo dos últimos 22 anos, este índice ainda é superior para Moçambique se comparado ao valor mundial, demonstrando que a fome mantém-se concentrada em alguns países em vias de desenvolvimento fato que demonstra que estes grupos de países necessitam de estratégias adicionais para disponibilização de alimentos com qualidade e quantidade para combater a desnutrição da população (FAO, 2014a; SARI, 2015).

Pode-se observar ainda na Tabela 1 que, a média de consumo de proteínas em Moçambique aumentou ao longo do tempo, mas continua muito abaixo do consumo mundial. Além disso, nota-se a prevalência pelo consumo de proteínas de origem vegetal. O consumo de proteínas de diversas origens é equilibrado de forma

geral no mundo, com destaque para o Brasil, por ser um grande produtor de carne e de grãos, a situação de países africanos ao exemplo de Moçambique é precária, quanto ao consumo de proteínas de origem animal, segundo dados da Tabela em referência.

Aliás, os problemas de Moçambique no continente africano são similares aos da maioria dos países em desenvolvimento considerados pobres com destaque para a falta de investimentos dos governos locais devido aos conflitos regionais e internos e desertificação, o que resulta em quase $\frac{1}{4}$ da população em situação de fome crônica e desnutrição permanentes questões estas que vêm sendo debatidas em reuniões internacionais das nações unidas para propor mecanismos de aproveitamento e potencializar o uso dos recursos locais do continente, com benefício para a população local (FAO, 2013).

Contudo, de forma muito contraditória, no continente africano é onde se encontram 25% das terras agricultáveis no mundo, das quais apenas 10% são aproveitadas. Por isso, o continente vem sendo alvo de grandes investimentos vindos de países como a China, Índia e Brasil com objetivo de aproveitar de forma eficiente a terra, produzindo alimentos a custos sustentáveis, contribuindo com a redução da fome no continente, além de gerar desenvolvimento social e econômico (FAO, 2013 b; RIBEIRO, 2014).

De acordo com SARI (2015) em 2030, prevê-se um cenário em que a principal fonte de proteína na alimentação seja de origem vegetal, a partir de cereais e oleaginosas. A estimativa de produção é de 785 milhões de toneladas de diversas culturas alimentares destacando-se os cereais, as leguminosas e as oleaginosas, que poderão fornecer cerca de 89 milhões de toneladas de proteínas bruta. Das principais fontes de proteínas atuais, as proteínas de cereais e oleaginosas correspondem apenas por 25% da demanda mundial.

Sabe-se que grande parte da produção de grãos ricos em proteínas é destinada para a produção pecuária, que consome 6 vezes mais proteínas, na forma de ração, do que é capaz de disponibilizar ao final na forma de carne, ou seja, a cada 6 kg de proteínas vegetais usadas na alimentação animal, apenas 1 kg de proteína animal é produzida e disponibilizada para alimentação humana. Do total da proteína que é destinada à produção pecuária, 24% provêm de grama, e o restante

de alimentos como cereais, leguminosas, ou mesmo coprodutos de processamento industrial, como as tortas e farelos do processamento de óleos (AIKING, 2011; BUCKO *et al.*, 2015; DAY, 2013; SARI, 2015).

Para que em 2030 ocorra um equilíbrio no fornecimento de proteínas de origem vegetal e animal, é importante que a indústria encontre alternativas para o maior aproveitamento e disponibilidade de proteínas de origem vegetal como, de cereais e oleaginosas. Os cereais possuem teores de proteínas em torno de 10 a 12 % e competem como grande fonte proteica para alimentação humana e animal em todo mundo, além disso, grande parte da produção de cereais é empregada na produção de etanol. Só em 2013 foram produzidos 1,5 bilhões de toneladas de cereais que forneceram cerca de 180 milhões de toneladas de proteínas, somado a isso, cerca de 200 milhões de toneladas de proteínas foram obtidas a partir de 400 milhões de toneladas de oleaginosas (AIKING, 2011; DAY, 2013; SARY, 2015).

No Brasil, a produção de grãos (cereais, leguminosas e oleaginosas) em 2013 ficou entre 188 a 204, 6 milhões de toneladas, prevendo-se que na safra de 2022/23 a produção alcance 222,3 milhões de toneladas, com um crescimento de 20,7% considerando a safra de 2012/13. Deste montante de grãos produzidos em 2013, cerca de 81,2 milhões de toneladas foram de soja, com previsão de atingir 99,2 milhões de toneladas na safra de 2022/23. Para “PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO NO BRASIL 2013”, um documento de referência do MAPA, a demanda por grãos vai continuar a crescer no mercado nacional e internacional, não apenas para atender a alimentação humana, mas, sobretudo para a produção de biodiesel e agropecuária, nos quais se espera consumir cerca de $\frac{3}{4}$ do total da soja produzida.

A soja é um dos grãos mais produzidos no mundo, e atingiu em 2012 a cerca de 270 milhões de toneladas e prevê-se para 2050 o montante de 514 milhões de toneladas. É a cultura que mais cresce ao nível da produção agrícola devido a tecnologia já instalada na cadeia de produção e processamento do grão. Apesar de ser fonte de proteínas vegetais, óleos vegetais, também empregado na produção de biocombustíveis, a cultura gera sérios problemas sobre o meio ambiente, principalmente relacionados a expansão de terras para cultivo e a demanda crescente por recursos naturais, como a água (AIKING, 2011; DAY, 2013; WWF, 2014).

Diante deste cenário, as estratégias sugeridas para minimizar o déficit na disponibilidade de alimentos e a competição com a produção de biocombustíveis passam pela diversificação da produção e aumento da produtividade agrícola, pecuária e de processamento, mas principalmente, pelo uso e aproveitamento integral dos recursos agrícolas, através da minimização do desperdício e utilização das potencialidades dos subprodutos gerados no processamento, como forma de atender a demanda crescente por matéria prima industrial, tornando a agroindústria mais competitiva, eficiente e sustentável, viabilizando deste modo, a disponibilização de matéria prima suficiente para a produção de ração animal, alimento humano, biocombustíveis e de outros produtos industriais em geral (FAO 2013; TEXEIRA *et al.*, 2014).

Neste sentido, alguns trabalhos na literatura vêm propondo a exploração e uso dos resíduos agroindustriais como potencial fonte de biomoléculas, com alto valor agregado e nutricional, como as proteínas vegetais, antioxidantes, vitaminas, fibras e carboidratos, que podem ser extraídas, isoladas e aproveitadas em diversos setores industriais na área de alimentos, fármacos, cosméticos e química, tornando a cadeia agroindustrial sustentável (SARI, 2015; TEXEIRA *et al.*, 2014).

5.3. Tipos e qualidade das proteínas de origem vegetal

A necessidade de alimentos proteicos na alimentação humana e animal está relacionado ao fato de os seres vivos (humanos e animais) não sintetizarem nem seu organismo os aminoácidos classificados como essenciais, e por isso, estes devem ser obtidos a partir da dieta diária. A fonte mais completa de aminoácidos essenciais até hoje reconhecida é a carne (DAMODARAN *et al.*; 2010;SARI, 2015).

Entretanto, a qualidade proteica dos diferentes alimentos está relacionada com a fonte (animal ou vegetal), sua composição em aminoácidos essenciais, quantidade ótima ingerida para atender as necessidades, bem como sua biodisponibilidade, que é muito influenciada por parâmetros de processo associados à sua obtenção. A temperatura desnatura a proteína em condições de aquecimento, tornando-a menos biodisponível (HIANE, 2006; SARI, 2015; SILVA, 2012).

Quanto às proteínas vegetais, sua qualidade nutricional é determinada por sua composição em aminoácidos essenciais. As leguminosas em geral, possuem

baixas concentrações de aminoácidos essenciais, principalmente os aminoácidos sulfurados metionina e cistina, considerados limitantes na maioria das leguminosas, em contrapartida, são ricos em aminoácidos do tipo ácido aspártico/asparagina e ácido glutâmico/glutamina.

Nos cereais, o aminoácido que aparece em quantidades consideráveis é a lisina. Uma boa proporção de aminoácidos essenciais é obtida quando se faz uma combinação perfeita entre diversas fontes de proteínas vegetais. É o caso da combinação de arroz (cereal) e feijão (leguminosa) que proporciona um teor de aminoácidos essenciais adequados à nutrição humana (SASAKI, 2008).

Para DAY (2013), o aumento da utilização das proteínas vegetais para suprir a produção de alimentos ricos em proteínas como alternativa às proteínas de origem animal, já é uma realidade. Além do seu potencial nutricional quando se realiza uma combinação de várias proteínas vegetais, desempenha um papel fundamental na formação de alimentos equilibrados e de baixo custo e acessível a maioria da população, com mesmo valor nutricional que a proteína de carne, uma fonte cara e pouco acessível a grande maioria da população.

Portanto, proteínas vegetais desempenham um papel importante na nutrição humana, principalmente nos países em desenvolvimento onde a média de ingestão diária de proteínas é menor do que as necessidades recomendadas pela OMS, de 0,80 gramas por kg de massa corpórea. Este fato está associado ao inadequado fornecimento de proteínas ou baixo conteúdo de proteínas nos diversos tipos de alimentos, ou fraco poder de aquisição e consumo de proteínas a base de carne, fonte proteica de alto custo. De acordo com a FAO (2013) e PROLA (2013), 80% das proteínas consumidas pela população dos países em vias de desenvolvimento são provenientes de cereais e leguminosas.

Portanto, é imperativo encontrar novas fontes proteicas, assim como tecnologias de fabricação de produtos e ingredientes proteicos, disponíveis e a baixo custo, a fim de diversificar o acesso a nutrientes essenciais. As proteínas vegetais oriundas da soja são as mais completas, e por isso, as mais utilizadas em formulações de vários produtos alimentares, devido sua qualidade e valor nutricional que se assemelham as proteínas de origem animal, além de apresentar diversas propriedades funcionais tecnológicas importantes na formulação de alimentos, a saber, capacidade de estabilizar emulsões e espumas, absorção de água que

melhora a textura, além de atuar como agente espessante (GBADAMOSI *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2009).

Por isso, os extratos proteicos extraídos de vegetais vêm ganhando interesse cada vez mais crescente como ingrediente nas formulações de alimentos e sistemas alimentares em muitos países. Entretanto, o sucesso no uso destes, como ingrediente, depende em grande parte das características que as proteínas conferem ao produto final, por este motivo, parâmetros do processo de extração, que afetam a qualidade das proteínas e o desempenho tecnológico das mesmas, tem sido motivo de muitas pesquisas (BOLAND *et al.*, 2013; KALPANA *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2014).

De acordo com ARANHA (2011), a qualidade dos subprodutos resultantes da extração de óleos vegetais, os farelos, como fonte de proteínas, de compostos bioativos ou outras biomoléculas específicas é determinada pela tecnologia e os parâmetros do processo de extração de óleos, pois os subprodutos obtidos da prensagem mecânica a frio são de elevada qualidade se comparados aos submetidos a processos de cozimento e/ou extraídos por solvente.

Contudo, para a escolha de uma matriz vegetal, possível fonte de biomoléculas, como as proteínas, as seguintes características devem ser observadas (AIKING, 2011; BOLAND *et al.*, 2013; WU *et al.*, 2014):

- Facilidade de extração ou isolamento das proteínas, mantendo a qualidade para uso final;
- Ausência de fatores antinutricionais para a produção dos produtos finais;
- Possuir maior solubilidade numa faixa de pH básico (pH 7 até 11);
- Possuir um perfil de aminoácidos em quantidade mínima requerida, principalmente se for destinado para ingredientes alimentares;
- Disponibilidade em quantidade que facilite a exploração industrial e que possa aumentar a cadeia agroindustrial de valor.

Pesquisas mostram que as tortas de amendoim e girassol são importantes fontes de proteínas para alimentação humana, podendo alternativamente substituir a proteína de soja e as proteínas do ovo. Diante disto, devido ao apelo associado a saúde, sustentabilidade, qualidade funcional tecnológica e ao alto valor nutricional

dos alimentos formulados com proteínas vegetais, a exemplo dos derivados proteicos de soja, a investigação por fontes proteicas alternativas a soja se tornam relevantes, a fim de contribuir para a diversificação das fontes proteicas e produtos obtidos a partir dos farelos de oleaginosas (AIKING, 2011; WU *et al.*, 2014).

As principais fontes de proteínas vegetais até agora conhecidas são as leguminosas (destacando se a soja e amendoim) e as sementes (algodão e girassol) , exploradas como fontes primárias de óleos vegetais, com teor de proteínas variando entre 19 a 36% (base seca) no grão e um teor de proteínas na faixa de 40 a 60% (base seca) no farelo obtido após a extração de óleo do grão (ARAÚJO & SOBREIRA, 2008; CORREIA, 2014; KOLESÁROVÁ *et al.*, 2011).

Apesar do alto teor proteico das leguminosas, a digestibilidade e biodisponibilidade destas proteínas são ainda baixas em comparação com fontes proteicas de origem animal. Isso está associado as características estruturais das principais proteínas que compõem as leguminosas (albuminas e globulinas) que são deficientes em aminoácidos sulfurados. Além disso, a presença de componentes antinutricionais nos grãos, com destaque para inibidores de tripsina e lecitina, também limita e dificulta o uso das proteínas extraídas de algumas leguminosas (GHATAK & SEM, 2013; GUANG *et al.*, 2012).

As albuminas e globulinas são classes de proteínas mais representativas das leguminosas dicotiledôneas (60-90%), como o amendoim, a soja e o girassol. As prolaminas e glutelinas são classes proteicas com maior representatividade ao nível dos cereais ou sementes monocotiledôneas, como o milho, arroz e trigo (BOLAND *et al.*; 2013; DAY, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2012; SASAKI, 2008).

No geral, as proteínas de origem vegetal são uma mistura destas frações, cuja proporção difere muito entre as espécies, variedades e cultivares. Apesar disso, a fração globulina é a fração principal entre as leguminosas e oleaginosas correspondendo entre 40 a 80% do total de proteínas (DAY, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2012).

De acordo com a classificação de NELSON & COX, (2008) a carga dos resíduos dos aminoácidos que formam as proteínas, divide-as nos seguintes grupos: *não polares e alifáticas* contendo principalmente os aminoácidos glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina e metionina; *polares sem carga* contendo os aminoácidos serina, treonina, cisteína, asparigina, glutamina; *básicas* contendo os

aminoácidos lisina, histidina, arginina; com aminoácidos contendo radicais com grupo amino *aromáticos* contendo fenilalanina, tirosina, triptofano e *ácidos contendo os aminoácidos* ácido aspártico e ácido glutâmico.

A Tabela 2 apresenta o perfil comparativo dos aminoácidos nas proteínas presentes nos farelos de polpa e amêndoa de macaúba, amendoim e soja, em relação aos padrões mínimos diários estabelecidos pela FAO (organização das nações unidas para agricultura e alimentação) para uma população adulta.

Tabela 2 - Teor de aminoácidos essenciais em (mg/g) presentes nos farelos da polpa e amêndoa de macaúba, de amendoim e de soja.

Aminoácidos Essenciais	Farelo de polpa de macaúba (a)	Farelo de amêndoa de macaúba (a)	Farelo de amendoim (b)	Farelo de soja (c)	FAO (c)
Isoleucina	41,2	26,8	34,5	53,1	28
Leucina	67,3	59,5	70,3	88,5	66
Lisina	58,5	78,1	38,5	59,6	58
Metionina+Cisteína	125,9	28,9	16,4	28,7	25
Fenilalanina +Tirosina	119,3	50,1	87,8	109,3	63
Treonina	50,2	17,6	22,1	46,3	34
Triptofano	-	-	7,3	11,2	11
Valina	47,5	57,9	39,5	57,3	35
Histidina	-	-	25,4	29,2	19

Fonte: Adaptado a partir de dados de (a) MUNHOZ (2013), (b) FREITAS (2009), (c) SILVA *et al.* (2006).

Na Tabela 2 observa-se que os farelos de polpa e amêndoa juntos, atendem satisfatoriamente a maioria dos limites estabelecidos pela FAO, com relação à composição mínima de aminoácidos essenciais fornecidos pelas proteínas destes farelos. Contudo, os farelos de macaúba são deficientes apenas com relação aos aminoácidos triptofano e histidina. Apresentam quantidades em excesso dos aminoácidos metionina + cisteína e fenilalanina + tirosina. Comparativamente, os farelos de soja, amendoim e de macaúba se complementam, atendendo em excesso, no geral, os limites estabelecidos pela FAO com relação às necessidades de consumo de aminoácidos essenciais.

5.4. Propriedades nutricionais e funcionais tecnológicas das proteínas

As proteínas são moléculas orgânicas formadas por aminoácidos que se unem através de ligações polipeptídicas. A palavra proteína vem do grego “*proteois*” que significa o primeiro tipo ou “proteios” que significa “*prioridade* ou mais importantes” (DAMODARAN *et al.*, 2010; LIMA, 2008).

Logo, as proteínas desempenham importante papel nos processos biológicos das células dos seres vivos, principalmente na estrutura dos órgãos, transporte, proteção, defesa, controle, regulação, movimento e armazenamento de elementos vitais (GHALY & ALKOAİK, 2010; LIMA, 2008; NELSON & COX, 2008).

Na prática, as proteínas são constituídas por 20 aminoácidos de acordo com DAMODARAN *et al.* (2010) e NELSON & COX (2008) e que se dividem em:

Aminoácidos essenciais: Metionina, Histidina, Valina, Leucina, Isoleucina, Lisina, Fenilalanina, Treonina, Triptofano e Arginina. Estes devem ser obtidos através da alimentação, o organismo humano não é capaz de sintetizá-los. A Histidina e Arginina são essenciais nos primeiros momentos da vida, depois passam a ser sintetizados pelo organismo (DAMODARAN *et al.*, 2010)

Aminoácidos não essenciais: São os que o organismo humano pode sintetizar, nomeadamente: Alanina, Cisteína, Aspargina, Glutamina, Glicina, Prolina, Serina, Tirosina, Ácido Aspártico, Ácido Glutâmico (DAMODARAN *et al.*, (2010).

Além das propriedades nutricionais, as proteínas possuem propriedades funcionais tecnológicas, como capacidade estabilizante e espessante, apreciáveis em diversas indústrias como na de alimentos, fármacos, química, entre outras (DAMODARAN *et al.*, 2010; REGITANO-D’ARCE, 2006).

Propriedades funcionais tecnológicas são definidas como qualquer propriedade que não seja atributo nutricional, e que influencia tanto o caráter sensorial dos alimentos, principalmente a textura, como o seu comportamento durante o preparo, processamento e armazenamento (AZEVEDO, 2008; DAMODARAN *et al.*, 2010; FONTANARI *et al.*, 2007; GUANG *et al.*, 2012; MUGENDI *et al.*, 2010; REGITANO-D’ARCE, 2006; SGOBI *et al.*, 2015).

Estas propriedades são afetadas por fatores inerentes a natureza das proteínas como sua estrutura, tamanho molecular e composição em aminoácidos, além de

fatores extrínsecos, como, o método de extração das proteínas, pH e força iônica do meio, presença de outros componentes, o que acaba por determinar o uso final das proteínas como ingrediente funcional tecnológico em alimentos. Desta forma, todas as propriedades funcionais das proteínas estão relacionadas com a hidrofiliabilidade e/ou hidrofobicidade destas biomoléculas e capacidade de interagir e reagirem com outros componentes, que esta intimamente ligada aos fatores acima mencionados (BOYE E BARBARA, 2012).

As propriedades funcionais tecnológicas associadas às proteínas podem ser divididas em 3 grupos principais, de acordo com a função que desempenham no produto final (DAMODARAN *et al.*, 2010; JIDEANI, 2011; REGITANO-D'ARCE, 2006):

- Propriedades de hidratação que envolve interações proteínas-água e incluem: a absorção e retenção de água, molhabilidade, solubilidade e viscosidade.

- Propriedades relacionadas à interação proteína-proteína, importantes na precipitação de proteínas (insolubilização), formação de gel e viscosidade.

- Propriedades de superfície, como tensão superficial, capacidade de emulsificação e formação de espuma.

Quanto às diversas propriedades funcionais apresentadas pelas proteínas, estas são desejáveis no processamento de diversos produtos industriais. A interação água-proteína torna as proteínas solúveis, sendo possível que estas desempenhem algumas de suas propriedades funcionais tecnológicas desejáveis industrialmente, como no processamento de massas e produtos de panificação, onde se deseja maior elasticidade, solubilidade e homogeneidade dos ingredientes na massa, o mesmo se aplica ao processamento de produtos cárneos, como os embutidos, onde a mistura de ingredientes deve resultar em uma massa elástica e com viscosidade adequada (JIDEANI, 2011, REGITANO-D'ARCE, 2006).

Já a partir das interações proteína-proteína é possível desenvolver textura em produtos cárneos e de panificação, associando viscosidade e incorporação de diferentes ingredientes de forma homogênea à formulação, mesmo que imiscíveis, onde somado as propriedades de superfície das proteínas, garante estabilidade e

características desejáveis, como aeração e emulsificação, aos produtos cárneos, de panificação e bebidas (DAMODARAN *et al.*, 2010; JIDEANI, 2011).

A Tabela 3 apresenta as principais propriedades funcionais tecnológicas, assim como sua forma de ação na formulação de alimentos, associadas aos diferentes produtos proteicos obtidos a partir de farelo de soja.

Tabela 3 - Propriedades funcionais tecnológicas dos principais ingredientes derivado de proteína de soja e suas aplicações na indústria de alimentos.

Propriedade funcional	Modo de ação	Alimentos aplicados	Ingrediente proteico
Solubilidade	Interação proteína-água	Bebidas, produtos cárneos	Farinha, concentrado e isolado proteico
Viscosidade	Interação proteína-água e proteína-proteína	Sopas, molhos	Farinha e concentrado proteico
Absorção de água	Interação proteína-água	Produtos cárneos	Farinha e concentrado proteico
Absorção de óleo	Interação gorduras livres-proteínas	Produtos cárneos, pães e massas	Farinha, concentrado e isolado proteico
Coesão e adesão	Interação entre ingredientes e proteínas	Produtos cárneos, pães e massas	Farinha, concentrado e isolado proteico
Formação de espuma	Propriedades de superfície	Coberturas cremosas e sobremesas	Isolado Proteico
Formação de gel	Interação proteína-proteína	Produtos cárneos, queijos	Concentrado e isolado proteico
Emulsificação	Propriedades de superfície	Produtos cárneos, sopas e bolos	Farinha, concentrado e isolado proteico
Elasticidade	Interações proteína-proteína; proteína-água; propriedades de superfície	Produtos cárneos, pães e massas	Farinha, concentrado e Isolado proteico.

Fonte: Adaptado a partir de dados de REGITANO-D'ARCE (2006) e JIDEANI (2011).

Conforme se pode notar na Tabela 3, a farinha desengordurada de soja (farelo de soja), o concentrado e isolado proteico de soja apresentam propriedades funcionais tecnológicas variadas, devido às proteínas vegetais presentes nestes ingredientes, que são utilizadas na produção de diferentes produtos alimentícios industrializados, com o intuito de associar a estes produtos diferentes características sensoriais, estabilidade e propriedades tecnológicas.

5.5. Principais fontes oleaginosas de uso industrial

Segundo dados da FAO (2014b), em 2013/2014 a produção mundial de oleaginosas foi de 509,9 milhões de toneladas, destacando-se as principais, 283,87 milhões de toneladas de soja, 42,87 milhões de toneladas de sementes de girassol, 40,29 milhões de toneladas de caroço de algodão e 39,82 milhões de toneladas de amendoim. No mesmo período, a produção de óleos vegetais foi de 44,98 milhões de toneladas de óleo de soja, 15,54 milhões de toneladas de óleo de girassol, 5,12 milhões de toneladas de óleo de algodão e 5,58 milhões de toneladas de óleo de amendoim, resultando (da extração de óleos a partir destas quatro oleaginosas) um total de 335,63 milhões de toneladas de tortas (ANUÁRIO AGROENERGIA, 2014).

Na Tabela 4, comparativamente à macaúba, são apresentadas as principais oleaginosas utilizadas industrialmente como fonte de óleos vegetais, e conseqüentemente, de biomoléculas como as proteínas vegetais, carboidratos e fibras, oriundas dos farelos.

Tabela 4 - Produtividades médias no Brasil em óleos, farelos e proteínas associadas à diferentes oleaginosas. Valores expressos em base seca.

Oleaginosa	Teor de óleo (%)	Produtividades (kg/ha/ano)			Proteínas no farelo (%)	Potencial de produção de proteínas (kg/ha/ano)
		Oleaginosa	Óleo	Farelo		
Amendoim	49	1.800	882	918	50	459
Canola	38	1.800	684	1.116	50	558
Gergelim	39	1.000	390	610	55	335,5
Girassol	43	1.600	672	928	55	510,4
Soja	19	2.200	418	1.782	55	980,1
Dendê/Palma	20	10.000	2.000	8.000	14	1.120
Polpa macaúba	31	10.000	3.100	6.900	8,5	586,5
Amêndoa macaúba	40	1.500	600	900	25	225

Fonte: Adaptado pelo Autor a partir de dados de TEXEIRA *et al.* (2014).

Na Tabela 4 pode-se verificar que a macaúba destaca-se por sua maior produtividade em óleos e farelos. A produtividade em óleos de macaúba chega a ser quase 10 vezes maior que a produtividade de óleo de soja e quase o dobro da

produtividade de óleo de dendê, óleo mais produzido e consumido mundialmente (ABRAPALMA, 2016).

Apesar dos farelos de polpa e amêndoa possuírem menor teor de proteínas, quando comparados com o farelo de soja, amendoim ou canola, os resíduos gerados no processamento de óleos de macaúba podem chegar a 7.800 kg/ha por ano, cujo potencial de produção de proteínas extraídas a partir dos farelos pode alcançar valores de 811,5 kg/ha/ano, valor próximo ao obtido para a soja de 980,1 kg/ha/ano, principal fonte de proteínas vegetais para a produção de ração, produtos e ingredientes proteicos.

Observando os dados apresentados na Tabela 4, nota-se que a polpa de macaúba sozinha é capaz de produzir mais proteínas que o amendoim, a canola, o girassol e o gergelim, principalmente devido ao montante de farelo de polpa gerado no processamento de óleos, o que coloca os farelos de macaúba como potencial fonte de proteínas vegetais.

Além disso, das oleaginosas consideradas tradicionais como a soja, girassol, amendoim, canola, gergelim, apenas o farelo de soja é integralmente aproveitado para a produção de ração animal e produtos para a alimentação humana, as demais continuam a ser parcialmente utilizadas, sendo empregadas principalmente na produção de ração animal. No geral, todos os farelos apresentam algum inconveniente associado ao seu uso na alimentação, seja animal ou humana, devido a presença de componentes antinutricionais e toxinas. Em contrapartida, segundo BORA & ROCHA (2004) não existe inconveniente nutricional associado ao consumo integral dos farelos obtidos da polpa e amêndoa de macaúba.

A soja é hoje a principal fonte de proteínas vegetais ao nível mundial, porém seu preço sofre fortes flutuações no mercado por ser uma commodity importante na regulação das exportações da maioria dos países produtores. A macaúba por não ser uma commodity, não sofre efeitos do mercado e tem sido apontada como uma importante e promissora fonte de óleos vegetais, principalmente para a produção de biodiesel (BORA & ROCHA, 2004; HIANE *et al.*, 2006a).

Comparativamente a outras fontes de óleos vegetais, o óleo extraído da soja é a principal matéria prima atualmente para a produção de biodiesel. Do total de biodiesel produzido no país, cerca de 76,4% em 2013 foi produzido a partir de óleo de soja, enquanto que a gordura animal representou 19,8% e o óleo de algodão 2,2%, o restante emprega outras oleaginosas como gergelim, girassol, amendoim e palmáceas.

Do total da soja disponibilizada no mercado, $\frac{3}{4}$ é utilizado na produção animal, cerca de 2 % dos restantes $\frac{1}{4}$ é destinada a produção de biodiesel e a outra parte destina-se a produção de produtos e ingredientes diversos para alimentação humana. Para atender as demandas do crescimento da população, em alimentos proteicos a base de soja e biocombustíveis, estimativas indicam que até 2050, a produção prevista de soja vai demandar mais 140 milhões de hectares contra os atuais 100 milhões de hectares para fornecer mais de 514 milhões de toneladas de soja contra os atuais 280 milhões de toneladas (CICONINI, 2012; MACHADO *et al.*, 2010; TEIXEIRA, 2014; WWF, 2014).

As previsões para 2030 indicam que a demanda mundial por cereais e oleaginosas será, respectivamente, de 2.838 milhões de toneladas e 686 milhões de toneladas (SARI, 2015).

Portanto, a busca por fontes oleaginosas alternativas, com maior potencial para produção de óleos, como amendoim, babaçu, sorgo, macaúba, pinhão manso, entre outras, que aproveitem o potencial produtivo regional e que demandem menor uso dos recursos naturais como terra e água se fazem importante, a fim de tornar mais eficiente a cadeia produtiva do biodiesel, com mínimo impacto sobre a produção de alimentos e conciliando o potencial para exploração dos resíduos gerados, principalmente para alimentação humana (KAMMERER *et al.*, 2014; LEIVA-CANDIA, 2014; WWF, 2014).

5.5.1. Amendoim e seu potencial como fonte proteica

O amendoim (*Arachis hypogaea. L*) é uma leguminosa originária da América do Sul, e que vem se expandindo no Brasil e no mundo em geral, devido seu teor apreciável em óleo e proteínas, sendo um importante produto na economia de alguns países africanos, como Moçambique (BALBINOT, 2007).

É uma cultura resistente à seca, de ciclo curto, que se adapta desde os climas equatoriais até os temperados. As sementes de amendoim apresentam uma grande quantidade de óleo, cerca de 45 a 50% ou mais (base seca) constituindo-se em uma importante fonte de óleo vegetal comestível e atraente fonte para produção e biodiesel. Adicionalmente, a cultura acrescenta renda aos produtores de agricultura familiar como fonte de proteínas vegetais de baixo custo (HOELTZ, 2009; LATIF *et al.*, 2013; RADHAKRISHNIN *et al.*, 2014; RUTZ *et al.*, 2011).

Desta forma, o amendoim destaca-se como a quarta fonte mais importante de óleos vegetais comestíveis no mundo e a principal fonte de proteínas em muitos dos países mais populosos do mundo, como China e Índia e em muitos países do continente africano com destaque para Moçambique, onde se verifica pouca disponibilidade de proteína de origem animal, eventualmente ofertada a alto custo para a população (AYOOLA *et al.*, 2012; GHATAK & SEN, 2013; GRACIANO, 2009; LATIF *et al.*, 2013).

Na Tabela 5 é apresentada a composição centesimal do amendoim, expressa em base seca, segundo diferentes autores.

Tabela 5 - Composição centesimal do amendoim e farelo de amendoim na base seca.

Composição (%)	Amendoim (a)	Farelo de amendoim (b)
Material seco	94,76±1,99	93,30±2,95
Proteína	29,23±2,81	50,47±3,98
Lipídeos	49,31±3,66	2,92±1,10
Cinzas	2,22±0,37	6,31±0,37
Carboidratos	19,24±2,84	40,30±4,67

Fonte: Dados médios calculados a partir de valores de (a) AYOOLA *et al.* (2012); CAMPOS-MONDRAGÓN *et al.* (2009); FREITAS, (2012) e (b) ARAUJO E SOBREIRA, (2008); CORREIA, (2014) e RUTZ *et al.* (2011).

Como se pode observar da Tabela 5, o amendoim apresenta teores apreciáveis de óleo e proteínas, correspondendo estes componentes a mais de 78% da sua composição em base seca. Enquanto que o farelo apresenta um teor de lipídeos de 2,92% e 50,47% de proteínas. O teor de proteínas presente no grão é

comparável aos teores presentes em outras oleaginosas como algodão, girassol e soja. Logicamente, o teor em proteínas é maior na torta ou farelo obtido após prensagem mecânica ou extração de óleos por solvente, concentrando desta forma as proteínas no subproduto gerado da extração de óleos.

Comparando-se os teores de proteínas no farelo e no grão de amendoim, nota-se que o teor de proteínas no farelo chega é quase aproximadamente 2 vezes maior que o teor de proteínas no grão. Assim, o farelo apresenta em média 50,47% de proteínas, além de fibras e carboidratos, fornecendo diversos nutrientes importantes para a dieta, valores estes maiores aos disponíveis no farelo de soja (CAMPOS-MONDRAGÓN *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2011; RUTZ *et al.*, 2011).

O óleo e a torta obtidos por processos de prensagem do amendoim possuem alta qualidade para o consumo humano e animal (PRETTI, 2010; CORREIA, 2014).

As proteínas presentes no amendoim são na sua maioria albuminas e globulinas. *Arachin* e *Conarachin* são as duas principais globulinas que juntas constituem mais de 85% das proteínas do amendoim. Cerca de $\frac{3}{4}$ das globulinas são compostas por *Arachin* que é a proteína majoritária no amendoim, responsável pelo nome científico do amendoim (*Arachis Hypogaea L.*). O restante, $\frac{1}{4}$ é composto pela proteína do tipo *Conarachin* (SEIFERT, 2009).

As proteínas do amendoim possuem como constituintes da cadeia proteica, todos os aminoácidos essenciais, destacando-se a leucina, tirosina e fenilalanina.

A proteína do tipo *Conarachin* contém 3 vezes mais enxofre do que as proteínas do tipo *Anarachin*, além disso, possuem mais nitrogênio básico do que qualquer outro grão. Portanto, as proteínas do amendoim possuem boa solubilidade em água, pois permitem que os grupamentos polares das proteínas se coloquem na superfície da mesma (AFIFY *et al.*, 2011; GHATAK & SEN, 2013; LIU *et al.*, 2011; MA *et al.*, 2010; YU *et al.*, 2007).

O conteúdo de Lisina na *Conarachin* é comparável ao conteúdo presente em músculos de animais, e é responsável pela maior solubilidade desta proteína em meio aquoso, quando comparada as moléculas de *Arachin* (AFIFY *et al.*, 2011; GHATAK & SEN, 2013; SEIFERT, 2009; WHITE *et al.*, 2014; YU *et al.*, 2007).

O consumo das proteínas de amendoim é associado por muitos pesquisadores como sendo benéfica para a saúde, porque minimiza ou reduz a incidência de doenças cardiovasculares, câncer, menopausa, melhora a circulação

sanguínea devido aos compostos bioativos presentes no amendoim e em suas proteínas como, por exemplo, as isoflavonas, resveratrol, e aminoácidos essenciais como arginina, treonina, alanina, cisteína, lisina, leucina, fenilalanina (LATIF *et al.*, 2013; RADHAKRISHNN *et al.*, 2014).

Portanto, devido a característica proteica associada ao amendoim, a torta proveniente do processo de extração de óleo, quando parcialmente desengordurada, é geralmente utilizada na formulação de alimentos proteicos, como ingrediente e aditivo que entram na linha de processamento de carnes, sopas e sobremesas.

Contudo, é importante destacar que cuidados adicionais são necessários na cadeia produtiva do amendoim, principalmente devido a presença de aflatoxina, uma toxina fungica produzida em grãos mal acondicionados e armazenados, componente que se acumula preferencialmente nas tortas e farelos após a extração dos óleos. Logo, o emprego das tortas e farelos do amendoim na indústria de alimentos e rações depende do adequado manejo pós-colheita, o que limita a maior participação e uso do grão e seus farelos no mercado e na indústria (ARAUJO & SOBREIRA, 2008; CHANG *et al.*, 2013).

Porém, estudos afirmam que os produtos resultantes da extração de proteínas dos farelos, como concentrado, isolado e hidrolisado proteico apresentam propriedades tecnológicas melhores que o próprio farelo integral de soja. Os produtos obtidos a base de farelo desengordurado de amendoim para de serem de baixo custo, são comparáveis aos de soja e de carne, sendo por isso, importante fonte proteica para a maior parte da população de regiões em desenvolvimento, onde as crianças em idade pré-escolar e mulheres gestantes, não se alimentam de forma adequada e são as mais vulneráveis (CERRUTI, 2013; MA, *et al.*, 2010; RIBEIRO, 2006; TANG *et al.*, 2012).

5.5.2. Macaúba [*Acrocomia Aculeata (Jacq) Lodd. Ex.Mart*] como fonte alternativa de óleos e proteínas vegetais

A palmeira de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lood. ex Mart), mais especificamente os seus frutos oleaginosos, vem despertando grande interesse industrial e recentemente vem sendo apontada como uma das matérias primas mais promissoras para a produção de biodiesel, principalmente devido a sua grande produtividade em óleo, podendo atingir uma produtividade em frutos entre 25 a 30

ton/ha/ano, considerando uma plantação com 200 palmeiras em média, e fornecer entre 4.500 kg/ha/ano a 6.200 kg/ha/ano de óleo. Estes valores são comparáveis a produtividade em óleo de palma, oleaginosa mais produtiva e produzida no mundo, seu óleo chega a representar 1/3 de toda a produção de óleo no mundo. Quando comparada a produtividade de óleo de soja, principal oleaginosa cultivada no Brasil, a macaúba chega a ser 10 vezes mais produtiva e quando comparada a produtividade em óleo de girassol e amendoim chega a ser 6 vezes mais produtiva (ALMEIDA, 2014; MARIANO, 2014; NOBRE *et al.*, 2014).

A palmácea de macaúba é uma planta arborescente, perene, frutífera, nativa e muito predominante em toda região das florestas tropicais da América principalmente desde o sul do México até as regiões do Brasil e Argentina. Especificamente no Brasil, ela predomina em quase todo o território nacional, com destaque para região do cerrado brasileiro, principalmente nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Ceará e Minas Gerais (FERREIRA *et al.*, 2013; NOBRE *et al.*, 2014; REVELLO, 2014; VERIDIANO, 2012).

A macaúba é uma cultura ainda explorada de forma extrativista, com grande importância sócio-econômica e ambiental, principalmente para agricultores familiares do cerrado que sobrevive da exploração e uso do fruto e partes da palmeira. Adicionalmente, a palmeira de macaúba pode ser praticamente 100% utilizada para diferentes aplicações, suas folhas podem ser empregadas como forragem ou na obtenção de fibras têxteis, o caule na confecção de ripas e calhas de água, por exemplo. Contudo, ao nível industrial o destaque encontra-se no aproveitamento dos frutos, de onde se podem obter os óleos vegetais, empregados na produção de biodiesel, cosméticos, alimentos e fármacos, além de outros produtos de interesse industrial, o que a classifica como uma cultura sustentável (ALMEIDA, 2014; VERIDIANO, 2012).

Os frutos de macaúba apresentam as seguintes características: formato esférico e ligeiramente achatado, com diâmetro que varia de 2,5 a 5 cm e com a massa entre 36 e 66 g, as variações podem ocorrer devido à região de cultivo, condições climáticas, solo, variedades, entre outras influências (ALMEIDA, 2014; CICONINI *et al.*, 2013; VERIDIANO, 2012).

Os frutos de macaúba, conforme indica a Figura 1, são constituídos em massa, por epicarpo ou casca (16-22%), mesocarpo ou polpa (35-42%), endocarpo (33 a 37%) e amêndoa (5-7%) (ALMEIDA, 2014; HIANE, 2006; NOBRE *et al.*, 2014; VERIDIANO, 2012).



Figura 1 - Metade do fruto de macaúba e suas principais partes constituintes.

(Fonte: Fotos do Arquivo do autor).

A Tabela 6 apresenta a composição média da polpa e amêndoa de macaúba, em comparação com o grão de soja, principal oleaginosa cultivada no Brasil e fonte de proteínas vegetais, assim como o amendoim.

Tabela 6 - Composição centesimal (%) em base seca da polpa e amêndoa de macaúba e do grão de soja

Composição (%)	Polpa (a)	Amêndoa (b)	Soja (c)
Matéria seca	53,78±3,89	91,89±3,64	93,32±1,48
Proteínas	5,54±2,98	22,72±5,09	41,94±1,61
Lipídeos	58,92±5,53	52,50±2,37	20,65±2,04
Cinzas	4,02±1,66	2,15±1,38	5,48±1,03
Carboidratos	31,52±3,46	22,63±2,51	31,93±2,86

Fonte: Valores médios calculados a partir da literatura: (a) - LESCANO *et al.* (2015); MUNHOZ (2013); TACO (2011); (b) - HIANE *et al.* (2006a); LESCANO *et al.* (2015); COIMBRA & JORGE (2011); (c) - BANASZKIEWICZ (2011)

Da Tabela 6, observa-se que a polpa apresenta um alto teor de umidade, quando in natura, diferente da amêndoa e demais sementes oleaginosas. A alta

umidade da polpa, além de prejudicar o processo de extração de óleos, também é responsável pela baixa estabilidade do mesmo, sendo necessário, um processamento pós-colheita imediato dos frutos a fim de obter-se um óleo de melhor qualidade. Desta forma, a secagem da polpa vem sendo utilizada como processo que garante estabilidade à polpa e que viabiliza o processo de extração de óleo de forma eficiente (VERIDIANO, 2012).

Na Tabela 6 é possível perceber que a amêndoa possui uma composição muito semelhante a do amendoim, sendo desta forma também, uma excelente fonte de proteínas vegetais, assim como a soja. Contudo, também nota-se que tanto a polpa quanto a amêndoa apresentam considerável teor de carboidratos, incluindo fibras, o que a destaca também como fonte potencial de carboidratos.

Nota-se na Tabela 6 ainda, que o teor de óleos tanto na polpa quanto na amêndoa são comparáveis aos observados para as sementes oleaginosas, amendoim e soja, demonstrando o potencial do fruto da macaúba como fonte promissora de óleos vegetais, com diferentes aplicações industriais.

Desta forma, pode-se afirmar que a polpa e amêndoa de macaúba podem ser industrialmente exploradas não só como fonte de óleos vegetais, mas também como fonte de proteínas e carboidratos, utilizados de diferentes formas e para diferentes aplicações, assim como é feito para outras oleaginosas exploradas industrialmente.

Com relação aos óleos, de um modo geral, o óleo extraído da polpa apresenta como principais ácidos graxos, o ácido oleico (53%) e o palmítico (19%), com grande potencial de uso na indústria de alimentos e na produção de biodiesel, o óleo extraído da amêndoa, por sua vez, é composto, principalmente, pelo ácido láurico (44%) e oleico (26%), sendo considerado um óleo fino, e por isso, muito apreciado na indústria de alimentos, fármacos e cosméticos (NOBRE *et al.*, 2014).

Devido ao grande interesse industrial pela macaúba, culturas comerciais estão sendo estabelecidas e a fim de incentivar a exploração comercial da mesma, o estado de Minas Gerais decretou em 2011, a lei estadual nº 19.485/2011, que instituiu a política estadual de incentivo ao cultivo, à extração, à comercialização, ao consumo e à transformação da macaúba e das demais palmeiras oleaginosas. A

regulamentação da referida lei no estado, também foi impulsionada pela demanda crescente por matérias primas fonte de óleos, que se inserem no contexto da geração de energias renováveis (AZEVEDO FILHO *et al.*, 2012).

Os óleos de macaúba extraídos da polpa e amêndoa integram uma das matrizes oleaginosas mais importantes e promissoras do Programa Nacional de Produção de Biodiesel (PNPB), principalmente devido aos custos relativamente baixos de obtenção dos óleos, com potencial para aumento da renda das comunidades rurais extrativistas e consequente redução da pobreza, através da possibilidade de integração entre agricultura, produção animal e produção de biocombustíveis (BERGMANN *et al.*, 2013; CICONINI *et al.*, 2013; HIANE, 2006; NOBRE *et al.*, 2014).

A escolha do tipo de tecnologia empregada na extração dos óleos vegetais da polpa e amêndoa é de fundamental importância, não só para garantir a qualidade dos óleos e dos subprodutos obtidos (tortas/farelos), mas também para diminuir os custos finais de produção. Devido ao alto teor de óleos na polpa e amêndoa da macaúba, alcançando quase 50%, em base seca, a tecnologia usualmente empregada para a extração dos óleos, com eficiência e baixo custo, compreende processos mecânicos de extração, como a prensagem, utilizando prensas hidráulicas e principalmente do tipo *expeller*. No contexto da cultura extrativista da macaúba, o uso das prensas mecânicas, em pequenas propriedades rurais, tem sido a opção ideal do ponto de vista econômico, prático e ambiental, gerando óleos e tortas com boa qualidade comercial e industrial (ALMEIDA, 2014; REVELLO, 2014).

Apesar da extração mecânica ser uma alternativa barata e relativamente eficiente, este processo unicamente não garante a máxima recuperação dos óleos presentes na polpa e amêndoa, gerando perdas de óleo juntamente às tortas, o que torna o processamento para extração de óleos industrialmente ineficiente. A literatura reporta um rendimento máximo associado à extração mecânica por *expeller* de 80% (PIGHINELLI *et al.*, 2007).

Logo, a exemplo do processamento industrial de oleaginosas como o amendoim, a canola e o girassol, a fim de aproveitar ao máximo o óleo presente nas partes da macaúba, a prensagem mecânica associada à extração por solvente

garantem máxima extração dos óleos e obtenção de farelos (torta desengordurada) de boa qualidade (TEXEIRA *et al.*, 2014).

Desta forma, a partir do processamento da polpa e amêndoa de macaúba, para extração de óleos, os farelos são produzidos como coprodutos e apresentam em sua composição biomoléculas de valor agregado como proteínas, fibras e carboidratos, conforme visto anteriormente, e que possuem diversas aplicações industriais.

A Tabela 7 apresenta a composição dos farelos de polpa e amêndoa de macaúba, em base seca em comparação com o farelo de soja, principal fonte comercial de proteínas vegetais.

Tabela 7 Composição centesimal, em base seca, dos farelos da polpa e amêndoa de macaúba e farelos de soja.

Composição (%)	Farelo polpa (a)	Farelo de amêndoa (b)	Farelo da Soja (c)
Material seco	92,73±2,07	90,78±0,93	92,62±3,29
Proteínas	7,34±1,06	34,6±4,91	48,29±1,80
Lipídeos	4,89±1,74	7,69±4,10	2,19±0,13
Cinzas	4,53±0,55	4,79±0,49	6,92±0,52
Carboidratos	83,24±1,95	52,92±1,35	42,67±1,64

Fonte: Valores médios calculados a partir da literatura: (a) - PEREIRA (2013); (b) - HIANE *et al.*, (2006a); SILVA *et al.*, (2014); (c) - BANASZKIEWICZ (2011);

Conforme se pode observar na Tabela 7, o farelo da polpa se destaca por sua composição em carboidratos que incluem as fibras alimentares e amido. O farelo de amêndoa, por sua vez, possui apreciável teor de proteínas e carboidratos, sendo comparável ao farelo de soja. Desta forma, pode-se dizer que os farelos de macaúba são fonte alternativa de biocomponentes importante para alimentação humana e de interesse industrial.

Sabe-se que o consumo de fibras alimentares, que na Tabela 7 estão incluídos no total de carboidratos, é apontado como responsável na prevenção de doenças degenerativas como câncer, osteoporose, diabetes e doenças cardiovasculares, sendo também auxiliar no combate da obesidade, atuando como facilitador do trânsito intestinal, igualmente importante na nutrição humana, os carboidratos

compreendem compostos que são à base da alimentação, como o amido e a sacarose. (DAMODARAN *et al.*, 2010; MINEIRO, 2014).

Outro destaque associado aos farelos da polpa e amêndoa de macaúba, além da composição em biomoléculas de interesse industrial e nutricional, é a ausência de compostos tóxicos e antinutricionais na composição dos farelos, como geralmente encontrado em tortas ou farelos obtidos de outras fontes oleaginosas como a soja, o amendoim, a canola, o girassol, entre outras. Ao extrair o óleo da maioria das sementes oleaginosas, os componentes tóxicos e antinutricionais tendem concentrar-se nas tortas ou farelos, o que muitas vezes limita o uso direto das mesmas na alimentação humana e/ou animal (NOBRE *et al.*, 2014; REVELLO, 2014).

Adicionalmente, conforme já discutido, os farelos de macaúba também se destacam como potencial fonte de proteínas vegetais, principalmente o farelo de amêndoa, devido ao seu relevante teor em proteínas, sendo indicado para formulação de ração animal, podendo também ser aproveitado na alimentação humana, como farinha rica em proteínas.

Apesar do teor em proteínas do farelo de polpa sendo quase 5 vezes menor que o teor de proteínas no farelo de amêndoa, a literatura reporta que o perfil em aminoácidos das proteínas obtidas da polpa é melhor conforme HIANE (2006) e REVELLO (2014). As proteínas presentes na polpa de macaúba destacam-se pela composição em aminoácidos essenciais, como fenilalanina, tirosina, metionina, cisteína, treonina e isoleucina presentes em quantidades superiores as observadas para as proteínas da amêndoa (BORA & ROCHA, 2004).

Dos aminoácidos não essenciais, destacam-se o ácido aspártico, alanina, glicina, prolina e serina que estão em quantidades superiores nas proteínas da polpa em comparação com as proteínas da amêndoa (BORA & ROCHA, 2004; HIANE, 2006b; REVELLO, 2014).

O aproveitamento dos potenciais apresentados pelos farelos de macaúba contribui para a consolidação da cadeia produtiva e sustentável desta matéria prima, agregando valor aos produtos obtidos do processamento dos frutos, contribuindo para a inserção da macaúba no agronegócio brasileiro e de produção de biocombustíveis.

Novas opções alimentares proteicas enquadradas na sustentabilidade social, econômica e ambiental, com aplicações na nutrição animal e humana, e integração dos sistemas de produção agrícola, pecuária e de biocombustíveis, tem sido o motivo de muitas pesquisas realizadas em torno da macaúba envolvendo principalmente, tecnologias aplicadas para o seu aproveitamento integral.

Desta forma, visando propor aplicações dos resíduos obtidos do processamento de óleos de macaúba, uma série de trabalhos na literatura reportaram o emprego dos farelos e tortas de macaúba na formulação de alimentos e dietas para alimentação humana e animal (CICONINI *et al.*, 2013; 2008; HIANE *et al.*, 2006; REVELLO, 2014; VERIDIANO, 2012) e rações e dietas para a alimentação animal de ruminantes em geral (BARRETO, 2008; CALDEIRA *et al.*, 2014), de caprinos (AZEVEDO FILHO *et al.*, 2012; RUFINO *et al.*, 2011), de cordeiros (FONSECA *et al.*, 2012) e de suínos (COSTA JUNIOR *et al.*, 2015).

Contudo, os estudos reportados não abordam a extração e obtenção de biomoléculas que compõem os farelos de macaúba, como as proteínas. A aplicação direta das proteínas em formulações de produtos pode influenciar na disponibilidade das mesmas nos produtos finais. Além disso, o produto proteico obtido após a extração das proteínas, na forma de isolado, concentrado ou hidrolisado proteico, possui uma qualidade superior como ingrediente de formulação de alimentos agregando valor dos farelos. É neste sentido que o presente trabalho visa contribuir, na viabilização e aproveitamento diversificado dos farelos de macaúba, a partir da extração de suas proteínas. Por isso, o capítulo que se segue vai abordar de forma detalhada os mecanismos da solubilidade das proteínas presentes nos farelos da polpa e amêndoa de macaúba e comparando as com as proteínas de amendoim em meio aquoso bem como avaliar a influência dos diferentes parâmetros como pH e concentração do sal (NaCl) visando a extração das proteínas.

CAPITULO II: ESTUDO DA SOLUBILIDADE NA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNAS

1. INTRODUÇÃO

O aproveitamento integral das matérias primas de natureza agrícola, com destaque para as biomoléculas das tortas e farelos resultantes do processo de extração de óleos vegetais, só é possível mediante a exploração das condições tecnológicas que permitem a separação destas moléculas do restante da matriz.

No caso particular para obtenção de produtos proteicos, a principal técnica de separação usada é a solubilização das proteínas presente nas matrizes, seguida de precipitação, obtendo-se isolados ou concentrados proteicos. O conhecimento das características de solubilidade proteica de cada tipo de matéria prima com composição e diferentes tipos de proteínas se reveste de importância fundamental na seleção de condições ideais e ótimas para extração de proteínas de diversas matrizes naturais.

Uma condição que garante boa solubilidade, aumento do rendimento do processo, além de influenciar nas características das proteínas com relação aos seus potenciais usos na indústria sendo por isso considerada uma propriedade prática para determinação do rendimento proteico (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*, 2010).

A solubilidade explora as condições consideradas intrínsecas como o tipo, a carga, quantidade e sequencia dos aminoácidos que constituem as proteínas e as condições extrínsecas como o pH, tipo de solvente e proporção, temperatura, entre outras, condições estas que devem ser avaliadas para os processos de extração de proteínas de matrizes vegetais (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*, 2010; GALANTE, 2013).

Por isso, o conhecimento teórico e prático do comportamento das proteínas quanto sua solubilidade em diferentes condições e para diferentes fontes proteicas é considerado o ponto de partida para definir a viabilidade, processos e equipamentos industriais para a extração de proteínas de resíduos agroindustriais, garantindo um uso sustentável dos recursos agrícolas (BAIANO, 2014; BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*, 2010; GALANTE, 2013).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Solubilidade de proteínas - Importância no processo de extração

A solubilidade de proteínas é uma propriedade importante a ser considerada no processo de extração de proteínas, pois influencia diretamente no rendimento e na qualidade do produto final, o extrato proteico sendo dependente de fatores intrínsecos (composição e sequência de aminoácidos) e extrínsecos (pH, força iônica, temperatura e concentração do solvente (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*, 2010).

O estudo de solubilidade de proteínas torna-se importante, uma vez que fornece informações relevantes para o desenvolvimento de processos de separação e purificação das mesmas. Na química de processos a solubilidade representa a quantidade de proteína passível de ser extraída da matriz sólida, empregando água ou outro solvente, em condições específicas de pH, temperatura, concentração de sais, tempo, entre outros fatores (BOYE & BARBARA, 2012; SIKORSKI, 2007).

Desta forma, a extração de proteínas por solubilização é um processo que objetiva a concentração das biomoléculas em uma fase líquida, antes das etapas de purificação, e que constitui a base para o processo de separações e purificação de proteínas a partir de diferentes fontes proteicas. A precipitação das proteínas, por sua vez, é considerada uma etapa de purificação das proteínas solubilizadas, e por isso, também é uma operação unitária de separação. Esta ocorre depois da extração das proteínas, seja por via química ou enzimática (BAIANO, 2014; GALANTE, 2013; WATANABE, 2007).

Em geral, o processo de extração de proteínas a partir de matrizes sólidas emprega métodos químicos que através do controle de pH (solubilização ou precipitação isoelétrica) e/ou adição de sal à solução de extração permite extrair ou solubilizar as proteínas em solução para posterior purificação e concentração.

Durante o processo de extração, a proteína que se encontra na matriz sólida é transferida para a solução segundo os mecanismos de transferência de massa, portanto, os parâmetros de processo, incluindo as condições do meio de extração influenciam significativamente não só na solubilidade, mas no processo de

transferência de massa e por isso, afetam o rendimento e eficiência de extração (BOYE & BARBARA, 2012; PARIMI *et al.*, 2015).

Em meio aquoso, as proteínas se moldam de forma a minimizar o contato dos resíduos de aminoácidos hidrofóbicos com a água e maximizar o contato dos resíduos hidrofílicos polares e carregados. As forças que atuam para estabilizar a proteína em seu estado nativo envolvem interações do tipo ponte de hidrogênio, interação de van der Waals e com o solvente. A estrutura, tamanho, carga, hidrofobicidade e hidrofiliidade dos aminoácidos que formam a proteína, além do tipo de solvente e temperatura, influenciam significativamente na solubilidade (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*,2010; PARSONS *et al.*, 2011;TIAN *et al.*;2015).

Quando em solução, as proteínas formam sistemas coloidais, ou seja, dispersões heterogêneas onde as moléculas dispersas são os coloides. Logo, a solubilidade das proteínas está diretamente relacionada à estabilidade do sistema coloidal que pode ser estudado considerando a teoria da dupla camada elétrica (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*, 2010; PARSONS *et al.*;2011;TIAN *et al.*;2015).

Assim, diferente são os efeitos do meio sobre a solubilidade das proteínas, como o pH, a presença de sais na solução de extração e a temperatura de processo.

2.2. Efeito do meio sobre a solubilidade das proteínas

A concepção de um processo tecnológico, que seja eficiente, exige o conhecimento mais profundo de todos os efeitos que influenciam o processo. Por isso, o estudo de como cada variável do meio interage para o alcance do equilíbrio entre as proteínas presentes na matriz proteica e no solvente, considerando aspectos intrínsecos e extrínsecos, como tamanho das partículas, forma e estrutura das moléculas, natureza das ligações químicas, temperatura de extração, agitação, proporção entre as fases, tipo de solvente, é fundamental e determinante para a obtenção de bons rendimentos e viabilidade para aplicação industrial do processo (DAMORARAN *et al.*, 2010; FRANCO & PESSOA FILHO, 2011).

Pelo exposto, a extração de proteínas de uma matriz sólida para a fase líquida só é possível, quando se conhece e manipula os parâmetros do meio visando favorecer a solubilização das proteínas (FRANCO & PESSOA FILHO, 2011).

2.2.1 Efeito do pH

As proteínas são constituídas de aminoácidos, logo, a sequência destes nas proteínas determina grande parte de suas propriedades. Por isso, as proteínas possuem caráter anfotérico, pois grupos laterais e terminais presentes nos aminoácidos que compõem as proteínas podem apresentar caráter ácido ou básico.

Portanto, dependendo do pH do meio aquoso, este afeta a densidade e a distribuição das cargas elétricas na molécula da proteína, logo, os grupos presentes nas proteínas podem apresentar carga positiva ou negativa, e se sua carga global for diferente de zero, forças de repulsão eletrostática atuam entre as moléculas, minimizando a agregação das mesmas e promovendo a solubilidade no meio líquido, devido forte interação com as moléculas de água. Assim, quanto menor for o número de grupos hidrofóbicos na superfície, maior é a solubilidade da proteína (DAMORARAN *et al.*, 2010).

De forma contrária, na precipitação isoelétrica de proteínas, o pH do meio é elevado até o ponto onde as proteínas possuem carga global nula, o ponto isoelétrico (p.I.), onde mínima repulsão eletrostática ocorre entre as moléculas, e se verifica maior interação e atração entre cargas iônicas de resíduos proteína-proteína e interações hidrofílicas que resultam em mínima solubilidade das proteínas devido a aglomeração e conseqüente precipitação.

De um modo geral, o perfil da curva de solubilidade das proteínas em função do pH tem um formato em “U”, sendo a proteína mais solúvel quanto mais distante do p.I. A curva típica é apresentada na Figura 2

A curva fornece informações úteis sobre o potencial de aplicação das proteínas e dos efeitos provocados pelos parâmetros que influenciam a solubilidade, sobretudo quando se trata de uma nova fonte em estudo, e por isso é uma das primeiras informações requeridas no estudo de extração de proteínas (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*, 2010; SAWADA *et al.*, 2014; SIKORSKI, 2007).

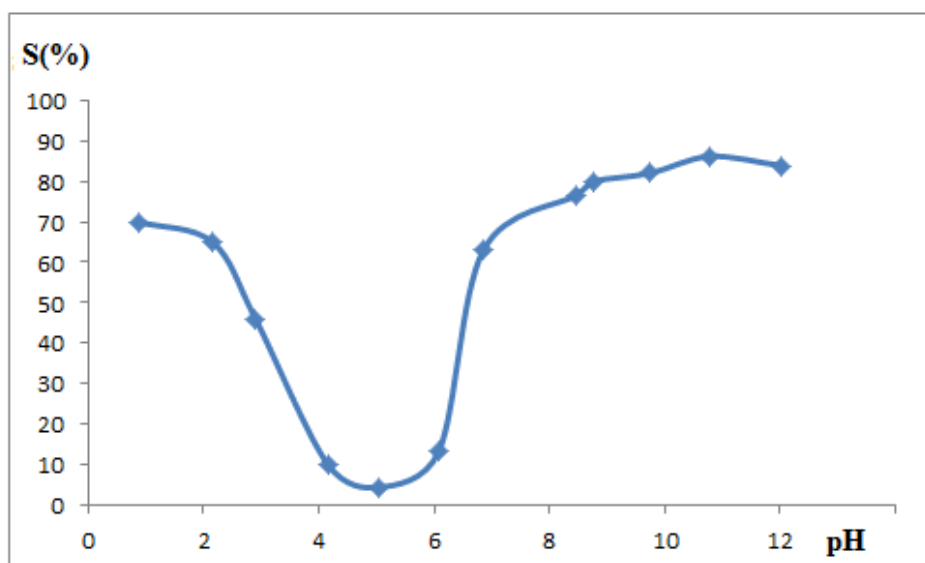


Figura 2: Curva típica da solubilidade de proteínas vegetais (Adaptado a partir de DAMODARAN *et al.*, 2010).

Conforme pode ser observado na Figura 2, o ponto de mínimo na curva é identificado como o ponto isoelétrico das proteínas, que geralmente se situa na faixa de pH entre 4 e 5 para a maioria das proteínas vegetais alimentares, e mais especificamente para as leguminosas e oleaginosas. Nesta região, se observa solubilidade mínima devido à falta de repulsão eletrostática entre as moléculas de proteína, o que promove a agregação e a precipitação por meio de interações hidrofóbicas (DAMORARAN *et al.*, 2010).

As abas laterais são as regiões de maior solubilidade, nomeadamente a região ácida, com pH inferior ao ponto isoelétrico onde predominam cátions, e região alcalina com pH superior ao ponto isoelétrico onde predominam os ânions e se registra a máxima solubilidade proteica (BOYE & BARBARA, 2012; BUCKO *et al.*, 2015; SAWADA *et al.*, 2014).

Contudo, devido as diferentes composições em aminoácidos das proteínas, os valores de ponto isoelétrico cobre uma ampla faixa de pH, porém, a literatura reporta que a maioria das proteínas apresentam p.I. na região ácida de pH (BOYE & BARBARA, 2012; DAMORARAN *et al.*, 2010). A máxima solubilidade geralmente se observa na região alcalina, onde se verifica maior interação entre moléculas de

solvente e proteínas através das interações do tipo pontes de hidrogênio, responsáveis pelo aumento da solubilidade (DAMORARAN *et al.*, 2010).

De um modo geral, os maiores rendimentos de extração proteica são obtidos na faixa de pH entre 9 e 12,5. Entretanto, o uso de soluções com pH igual ou acima de 12 está associado a formação de lisinalanina (resultante de ligações cruzadas), composto formado no processo e na extração de proteínas vegetais sob condições severas de extração, principalmente em meio alcalino e em altas temperaturas, o que afeta a biodisponibilidade da mesma, sendo um indicador de baixa qualidade para produtos proteicos (DAMORARAN *et al.*, 2010). Também é importante mencionar, que o emprego de pH extremos, inferiores a 5 e acima de 10, por longos períodos de tempo podem ocasionar o desdobramento ou desnaturação das proteínas fazendo com que as mesmas tornem-se menos solúveis.

Além do pH, o comportamento da curva de solubilidade pode ser influenciado por diferentes parâmetros de extração, como concentração de sais, temperatura, entre outros. A partir da curva de solubilidade, é possível identificar as melhores condições de extração, a fim de obter o máximo rendimento em proteínas, ou seja, máxima solubilização das proteínas (BOYE & BARBARA, 2012; SIKORSKI, 2006).

2.2.2 Efeito da força iônica e da Concentração salina

As proteínas também podem ser solubilizadas/precipitadas na presença de sais. Para uma solução salina, a força iônica do meio é diretamente proporcional ao aumento da concentração da solução.

Desta forma, quando baixas concentrações salinas ($< 1 \text{ mol.dm}^{-3}$) são empregadas, interações entre os íons provenientes da dissociação do sal e as cargas superficiais das proteínas são observadas, diminuindo a interação proteína-proteína, aumentando a repulsão eletrostática e a hidratação por pontes de hidrogênio, resultando em aumento da solubilidade através do fenômeno conhecido como “*salting-in*”. Nestas condições de baixa força iônica, as partículas encontram-se a uma distancia maior que a dupla camada elétrica (BOYE & BARBARA, 2012; SIKORSKI, 2006).

Com o aumento da concentração salina, o oposto é observado, a água (solvente) interage mais fortemente com os íons dissociados, resultando na

desidratação das proteínas. Logo, a interação proteína-proteína se torna mais forte, diminuindo a solubilidade da proteína no meio em um fenômeno conhecido como “*salting-out*”. Além disso, a maior força iônica da solução diminui a espessura da dupla camada elétrica, ocasionando maior interação entre as proteínas (BOYE & BARBARA, 2012; DAMORARAN *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2007).

Dependendo do tipo de sal empregado, diferentes concentrações são necessárias para melhor solubilizar ou precipitar certa quantidade de proteínas. Desta forma, a solubilidade de proteínas a certa força iônica varia com o tipo de íon em solução (CURTIS & LUE, 2006; PARSON *et al.*, 2011; ZHANG, 2012).

2.2.3 Efeito da Temperatura

A temperatura é um fator que também exerce influência na solubilidade proteica, o tratamento térmico em processos industriais é indispensável quando se pretende melhorar a solubilidade das proteínas presentes em uma matriz (MARTINEZ-MAQUEDA *et al.*, 2013). Para as proteínas extraídas, a solubilidade pode ser uma característica fundamental para sua aplicação e uso, como quando as mesmas são utilizadas como agente estabilizante e emulsificante (DAMODARAM *et al.*, 2010).

A temperatura na maioria dos casos é considerada inconveniente por provocar a desnaturação das proteínas quando ultrapassa a faixa de 55 a 66 °C. Em temperaturas entre 0 e 40 °C, o aumento da solubilidade das proteínas é proporcional ao aumento da temperatura. Contudo, mesmo empregando-se temperaturas moderadas, abaixo de 50 °C, por longos períodos a desnaturação das proteínas pode ocorrer (DAMODARAN *et al.*, 2010; MARTINEZ-MAQUEDA *et al.*, 2013).

A desnaturação térmica de proteínas está associada a modificações, geralmente irreversíveis, na conformação estrutural da proteína, com a perda da estrutura secundária, terciária e quaternária, que mantém a molécula estável em sua forma nativa, predominando, portanto a estrutura primária. Na conformação espacial primária, os grupos hidrofóbicos antes concentrados no interior da molécula são expostos, permitindo assim uma maior interação entre estes grupos em proteínas diferentes, reduzindo a interação da proteína com a água e por isso sua solubilidade (BOYE & BARBARA, 2012; DAMORARAN *et al.*, 2010; MACHADO *et al.*, 2006).

Outros fatores que também influenciam a solubilidade estão relacionados com a razão sólido:solvente, tamanho de partículas, agitação do sistema e tipo de solvente. A literatura reporta que proporção sólido:solvente inferior a 1:10 prejudica a extração e proteínas, pois resulta em misturas com maior viscosidade e menor gradiente de concentração entre fases, dificultando a difusão de moléculas do sólido para o solvente. Enquanto que partículas sólidas com diâmetros menores a 0,5 mm facilitam o processo de extração, pois possuem maior área superficial de contato e menor distância a ser percorrida pelo solvente no interior da partícula. A maior agitação do sistema favorece o movimento convectivo na solução de extração proporcionando maior interação entre partículas e o solvente e com isso maior extração (CHAN *et al.*, 2014; ESSA *et al.*, 2015; KRISHNAN *et al.*, 2013; STENZEL *et al.*, 2009).

2.3. Estabilidade de sistemas coloidais

Um modelo simplificado proposto por PARSONS *et al.* (2011) tem sido utilizado para descrever as propriedades ácido-base das proteínas. Neste modelo a proteína é considerada como uma superfície carregada com carga líquida determinada através de um sistema de regulação de cargas, sendo a carga média da proteína definida pelo equilíbrio ácido-base em solução aquosa (CURTIS & LUE, 2006; LIMA, 2008; PARSONS *et al.*;2011;TIAN *et al.*;2015; ZHANG & CREMER, 2006).

A descrição do comportamento do sistema coloidal formado pela proteína em solução baseia-se no conhecimento das forças intermoleculares que atuam entre as partículas coloidais em solução e as propriedades elétricas destes sistemas.

Quanto às forças de interação entre proteína-proteína estas são de natureza física ou não covalente. O modelo conhecido por teoria de DLVO (inicial dos autores DERYAGUIN, LANDAU, VERWEY, OVERBEEK) explica as interações superficiais envolvidas entre macromoléculas nos sistemas coloidais. As forças envolvidas são forças eletrostáticas geradas pela dupla camada elétrica e forças de van der Waals. As interações eletrostáticas da dupla camada ocorrem devido interações elétricas das partículas de proteínas carregadas. Logo, são diretamente proporcionais à quantidade de carga e inversamente proporcional ao quadrado da distancia que as separa. As forças do tipo van der Waals, por sua vez, atuam nas partículas estejam

estas carregadas ou não (PARSONS *et al.*;2011; TIAN *et al.*, 2015; ZHANG & CREMER, 2006). Logo o último tipo de interação independe do valor de pH e presença de sal no meio de extração.

Na teoria DLVO, a estabilidade dos sistemas coloidais está relacionada com o potencial de campo médio entre 2 partículas coloidais. Contudo, a teoria não descreve a especificidade com que alguns íons atuam sobre os sistemas coloidais. De acordo com PARSONS *et al.*(2011) e TIAN *et al.* (2015) consideram que Hofmeister classificou em 1887 qualitativamente o efeito de diferentes íons sobre a precipitação de proteínas, ou desestabilização da suspensão coloidal. Eles consideram que de acordo com Hofmeister, a interação entre proteínas são mais afetadas por alguns sais do que outros (DAMORARAN *et al.*, 2010; TIAN *et al.*, 2015; ZHANG & CREMER, 2006).

Assim, segundo PARSONS *et al.* (2011) e BOYE & BARBARA (2012) a sequencia proposta por Hofmeister em1887 classifica a habilidade dos íons em precipitar as proteínas em:

Para aníons: $\text{CO}_3^{2-} < \text{SO}_4^{2-} < \text{F}^- < \text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{NO}_3^- < \text{I}^- < \text{ClO}_4^- < \text{SCN}^-$.

Para os cátions: $\text{NH}_4^+ < \text{Li}^+ < \text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+}$.

Conforme anteriormente mencionado, as proteínas quando em solução apresentam carga positiva ou negativa. Estas cargas elétricas têm origem na dupla camada iônica que se forma em sua superfície, devido à adsorção seletiva de íons do eletrólito que compõe o meio líquido ou devido à ionização dos grupos superficiais a molécula.

A ideia de dupla camada elétrica se refere à dupla camada que se forma na superfície carregada da proteína. Esta é formada pela camada de íons da superfície do coloide e uma quantidade equivalente de íons carregados com carga oposta, dispersos na fase líquida, neutralizando os íons da superfície.

Os íons com mesma carga (co-íons) que a superfície são repelidos enquanto os íons com carga oposta (contra-íons) são atraídos à superfície da molécula, influenciando na distribuição de íons próximo as moléculas. Portanto, a teoria aborda a magnitude do potencial elétrico na vizinhança da superfície carregada (LIMA, 2008).

Segundo e BOYE & BARBARA (2012), PARSONS *et al.* (2011) e TIAN *et al.*(2015) a distribuição dos íons depende da natureza dos contra-íons. Para contra-

íons de mesma valência, a espessura da dupla camada e o número de íons adsorvidos depende da polarizabilidade e da hidratação dos íons, propriedade dependente do raio iônico (DAMORARAN *et al.*, 2010).

Uma grande polarizabilidade favorece a contração da dupla camada devido ao aumento das forças de interação. A hidratação diminui com o aumento do raio iônico, logo a dupla camada também é contraída devido a maior interação eletrostática com a superfície carregada, quanto menor a hidratação.

Por isso, a habilidade de alguns cátions e ânions em precipitar as proteínas são diferentes, conforme mostra a classificação de Hofmeister. Quanto mais contraída a dupla camada elétrica, menor é a estabilidade da suspensão coloidal.

2.4. Classificação das proteínas vegetais quanto a solubilidade em diferentes solventes

Várias são as classificações propostas para as proteínas, quanto sua estrutura, função e também quanto à solubilidade, apesar de esta última classificação ser mais limitada, ela é até hoje a mais empregada (DAY, 2013; HORAX *et al.*, 2010; LESTARI *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*; 2012; SASAKI, 2008; TAN *et al.*, 2011; URSU *et al.*, 2014).

Segundo a classificação de Osborne e Mendel de 1914, e utilizado com algumas modificações, as proteínas podem ser classificadas de acordo com sua solubilidade em diferentes solventes ou meios extratores. O emprego de diferentes meios de extração sucessivos resulta no fracionamento das proteínas em diferentes grupos de acordo o tipo ou afinidade com o solvente, a partir de uma matriz. Desta forma, as proteínas podem ser classificadas em grupos conforme abaixo, conforme DAMORARAN *et al.* (2010):

Albuminas - são proteínas solúveis principalmente em água e também em soluções fracamente ácidas ou alcalinas, estão presentes em grande quantidade nas proteínas animais. No caso das proteínas vegetais, representam frações entre 10 a 30% das proteínas totais presentes em sementes de leguminosas. São proteínas do tipo globulares compactas compostas por duas cadeias polipeptídicas com pesos moleculares baixos que variam entre 4.000 a 9.000 Da, e contribuem com mais de 50% do enxofre nas sementes das plantas sendo usadas na sua maioria na

fabricação de substâncias estabilizantes e suplementos alimentares (DAY, 2013; RODRIGUES *et al.*; 2012).

Globulinas - são proteínas praticamente insolúveis em água, mas solúveis em solução salina, constitui a fração de proteína de reserva mais representativa na maioria das sementes leguminosas, entre 40-80%, e presente em pequenas quantidades nos cereais. Classificam-se em vicilinas e leguminas, geralmente. São constituídas na sua maioria por aminoácidos ácidos (ácido aspártico e glutâmico) o que confere a proteína caráter ácido, tendo o ponto isoelétrico em regiões ácidas com pH entre 4 e 5. Este tipo de proteína é usada na fabricação de produtos proteicos como concentrados e isolados proteicos para serem usados como ingredientes na indústria de alimentos para enriquecimento proteico e melhora de outras propriedades funcionais tecnológicas dos alimentos (DAY, 2013; SASAKI, 2008).

Prolaminas - são insolúveis em água e etanol absoluto, mas solúveis em solução concentrada de álcool (60-75%). São as principais frações de proteínas de reserva dos cereais (destaca-se a zeína do milho) representando mais de 50% do total de suas proteínas, são ainda caracterizadas pelo teor elevado de aminoácidos alanina, leucina e prolina, e pelas propriedades viscosas das soluções que a contém. Apresentam como característica fundamental a capacidade de absorver água e óleo, sendo por isso usado na fabricação de filmes conservantes de alimentos altamente perecíveis, embalagens biodegradáveis e na microcápsulas na indústria de farmacêutica (DAY, 2013; SASAKI, 2008).

Glutelinas – são insolúveis em água, mas são solúveis em soluções ácidas ou alcalinas diluídas, são proteínas características do arroz, do trigo (glutelina de trigo) e representam cerca de 80% das proteínas destes cereais. Apresentam peso molecular elevado, variando entre 45.000 a 150.000 Da, o que as tornam mais difíceis de solubilizar e por isso difíceis de serem extraídas. São usadas como ingredientes da indústria de panificação, fabricação de biofilmes, material biodegradável, e nano partículas para liberação de drogas na indústria de fármacos, devido a suas propriedades de formar massa viscosa e por apresentar menor elasticidade. A glutelina do trigo, juntamente com a gliadina e água formam o glúten, responsável por dar extensibilidade a massa do pão, reter o gás carbônico,

promovendo o aumento do volume da massa (DAMODARAN *et al.*, 2010; DAY, 2013; RODRIGUES *et al.*; 2012).

As albuminas e globulinas são classes de proteínas mais representativas das leguminosas dicotiledôneas (60 - 90%), como o amendoim, a soja e o girassol, enquanto que as prolaminas e glutelinas são proteínas representativas de cereais (monocotiledôneas) como o milho, arroz e trigo (40 a 60%) (HORAX *et al.*, 2010; LESTARI *et al.*, 2010; TAN *et al.*, 2011; URSU *et al.*, 2014).

Diante do exposto, diversos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de viabilizar e melhorar o processo de extração de proteínas a partir de diferentes fontes, principalmente resíduos agroindustriais. Conhecer como diferentes condições de processo influenciam na extração, rendimento e qualidade do produto final é de grande relevância para a definição de processos e parâmetros de operação viáveis em escala industrial.

IVANOVA *et al.* (2013) investigaram a influência da variação do pH e da concentração de NaCl na solubilidade de proteínas da semente de girassol, a fim de obter-se um isolado proteico. O ponto de insolubilização das proteínas ou simplesmente p.I. foi registrado na faixa de pH entre 4 - 5,5. A maior solubilidade foi registrada na região ácida de pH igual a 2 e região neutra de 7. Com relação a concentração salina, maior solubilidade foi obtida na concentração de 0,03 mol.dm³ quando compara a de 0,25 mol.dm³.

YU *et al.* (2007) estudaram a extração de proteínas de farinha desengordurada de amendoim submetida a diferentes tratamentos térmicos e observaram que a solubilidade foi afetada pelo tratamento. O ponto isoelétrico das proteínas situou-se na faixa de 3,5 a 4,5 e a solubilidade máxima foi observada em pH igual a 10, quando a água foi utilizada como solvente. A maior solubilidade das proteínas foi de 35 a 40 % para a farinha cujo amendoim não sofreu tratamento térmico, para as farinhas do amendoim torado e fermentado obteve-se um menor rendimento de extração ou solubilização das proteínas.

GBADAMOSI *et al.* (2012) estudaram a utilização de farinha das sementes de *Conophur* (*Tetracarpidium conophorum*), abundante na região oeste da África, como fonte de proteínas. No estudo de solubilidade das proteínas da farinha, foi verificado maior solubilidade na região alcalina de pH entre 10 a 12. O ponto isoelétrico

ocorreu no pH de 4 a 6. Desta forma, os autores concluíram que as maiorias das proteínas da farinha são de caráter ácido, como a maioria das proteínas vegetais. A partir do fracionamento das proteínas em diferentes meios de extração observaram que os principais grupos de proteínas foram: 59,5% de globulinas, 32,82% de glutelinas, 6,36% de albuminas e 1,32% de prolaminas.

REZIG *et al.* (2013) estudaram a solubilidade de proteínas de sementes de abóbora em diferentes meios de extração. Foi observado que a maior fração de proteínas foi extraída em solução salina de $0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$, com rendimento de 42,1%. O ponto isoelétrico ficou entre o pH de 3 e 4, onde se verificou menor solubilidade, e a maior solubilidade foi registrada em pH de 11.

GUIMARÃES *et al.* (2008) também investigaram a influência do pH em soluções aquosas de extração na solubilidade das proteínas de farinha desengordurada de amêndoa de baru, visando a obtenção de concentrado proteico. A máxima solubilidade das proteínas foi registrada na região alcalina a um pH de 10 e o ponto isoelétrico situou-se entre os pHs de 4 e 5.

ZENG *et al.* (2013) estudaram o fracionamento em diferentes meios de extração das proteínas das sementes de lótus, uma espécie de plantas aquáticas. Foi observado que do total das proteínas presente na semente, 41,58% são de albuminas, 26,58% de globulinas, 6% de prolaminas e 18% de glutelinas.

REIS & NETTO (2006) concluíram que a maior extração de proteínas de grãos de amaranto ocorre em meio aquoso, livre de sal, em pH de 9.

AROGUNDADE *et al.* (2009) estudaram a solubilidade de proteínas da castanha de caju em diferentes pH e concentrações salinas. Os autores observaram que a mínima solubilidade ocorre em pH de 5 e a solubilidade máxima em pH de 12, quando a água foi utilizada como solvente. Na avaliação da influência de diferentes sais e concentrações, a saber, cloretos de potássio e sódio e hidrofosfato de potássio e de sódio, observaram que a maior solubilidade foi obtida para o NaCl a uma concentração de até 1 mol.dm^{-3} .

TOUNKARA *et al.* (2013) investigaram o fracionamento de proteínas, em diferentes meios de extração, da farinha de sementes de roselle (*Hibiscus sabdariffa*), e concluíram que as frações de proteínas presentes nas sementes são

de globulina 31,8%, albumina 16,47%, glutelinas 10,2% e por fim, prolaminas com 5,57%.

PORRAS-SAVEDRA *et al.* (2013) investigaram a solubilidade de proteínas da sementes de tremoço em soluções aquosas a diferentes pHs. O ponto de mínima solubilidade (P.I.) ocorreu em pH entre 4 e 5. A solubilidade máxima foi verificada em pH de 10.

TEXEIRA *et al.* (2014) investigaram o fracionamento das proteínas da folha de moringa. Apenas 9,2% das proteínas foram solubilizadas nos diferentes meios de extração. Das proteínas extraídas, 3,1% são albuminas, 3,5% glutelinas, 2,2% prolaminas e 0,5% globulinas.

SULIMAN *et al.* (2006) avaliaram o efeito da variação de pH e concentração de sal NaCl na extração de proteínas da lentilha, sendo constatado que o p.i. ocorreu em pH de 5. Em relação a presença de sal na solução de extração, verifica-se que a adição de sal até $0,6 \text{ mol.dm}^{-3}$ favorece o aumento da solubilidade das proteínas. Concentrações acima de 1 mol.dm^{-3} diminuem a solubilidade das proteínas.

NNADOZIE *et al.* (2015) e LOURENZO, (2008) observaram comportamento semelhante sobre o duplo efeito na solubilidade quando soluções salinas são utilizadas para a extração de proteínas da farinha desengordurada das sementes de melão e amendoim, respetivamente. Nas concentrações baixas ($< 1 \text{ mol.dm}^{-3}$) registram aumento da solubilidade devido ao efeito *salting in* e em maiores concentrações, redução da solubilidade devido ao efeito *salting out*.

Logo, nota-se que para cada tipo de matéria prima o comportamento da extração de proteínas, em diferentes condições de processo, é variado e diferente. Desta forma, é importante investigar o comportamento do perfil de solubilidade das proteínas, em diferentes condições, para cada tipo de matéria prima fonte de proteínas com potencial para exploração industrial.

Sendo assim, o presente capítulo visa investigar a solubilidade das proteínas das tortas desengorduradas (farelo) de polpa e amêndoa de macaúba. Como comparação, a solubilidade das proteínas do farelo de amendoim também foi determinada. Destaca-se que não existe na literatura trabalhos que tratem da extração de proteínas dos farelos de macaúba. O estudo objetiva trazer informações técnicas e científicas que possam contribuir para um melhor aproveitamento dos

frutos da macaúba, considerado fonte potencial de biomoléculas como lipídios, fibras e proteínas.

3.OBJETIVOS

O Objetivo Geral

No geral, no presente capítulo pretende-se obter o perfil de solubilidade (curvas de solubilidade) das proteínas presentes nos farelos da polpa e amêndoa de macaúba, comparados ao perfil das proteínas extraídas do farelo de amendoim.

Objetivos específicos:

- Investigar a influência na extração em diferentes pH;
- investigar a influência da concentração de sal na solubilidade;
- Investigar a influência na extração em diferentes tipos de sais (NaCl, Na₂CO₃ e Na₂SO₄) e em diferentes concentrações.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1 Matéria prima

O amendoim foi adquirido no Central de Abastecimento (CEASA) de Belo Horizonte – MG em 2012. Os frutos de macaúba foram coletados de palmeiras localizadas no campus da UFMG-Pampulha nas épocas de 2012 e 2013. Os frutos foram processados para obtenção da polpa e amêndoa e as tortas parcialmente engorduradas doadas gentilmente pelo grupo de pesquisa da macaúba do DEQ/UFMG.

Os farelos de amendoim, de amêndoa e polpa de macaúba foram obtidos após extração dos óleos empregando-se prensagem mecânica em prensa do tipo “*expeller*” (Scott Tech, modelo ERT-60) combinada à extração por solvente, empregando extrator do tipo soxhlet com éter de petróleo (Vetec). O ciclo de extração durou 6 horas. Por fim, as tortas desengorduradas (farelos) foram desolventizadas em condição ambiente e armazenadas em sacos plásticos sob-refrigeração.

4.1.2 Reagentes

Os seguintes reagentes, nomeadamente cloreto de sódio, ácido clorídrico, carbonato de sódio, sulfato de sódio, ácido sulfúrico e hidróxido de sódio, sulfato de cobre, sulfato de potássio, ácido bórico todos da marca VETEC foram adquiridos da empresa SIGMA ALDRICH - Brasil, todos de padrão analítico (PA). NaCl, Na₂CO₃ e Na₂SO₄ foram usados na preparação de soluções de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.dm⁻³, respectivamente, enquanto que NaOH e HCl foram usados para preparar soluções de 1 mol.dm⁻³ cada para o ajuste de pH.

4.2. Métodos

4.2.1 Caracterização granulométrica dos farelos

Os diferentes farelos foram caracterizados quanto à granulometria, utilizando uma seleção de peneiras com mesh entre 35 e 70 e mesa vibratória da marca Bertel. A granulometria de trabalho selecionada. Para cada material, compreendeu a peneira que reteve maior quantidade de matéria prima. Desta forma, a granulometria média das partículas pode ser determinada através da equação 2.1.

$$D_m = \frac{D_s + D_i}{2} \quad \text{Equação 2.1}$$

Onde D_m é o diâmetro médio das partículas, D_s é o diâmetro da peneira onde o material foi retido e D_i é o diâmetro da peneira imediatamente superior, em mm.

4.2.2 Caracterização Centesimal dos farelos

Os farelos foram caracterizados quanto sua composição centesimal. A análise de umidade, foi realizada de acordo com método oficial Ba 2a – 38 (AOCS, 2009), em estufa de circulação forçada de ar (*Sterilifer*, modelo digital Timer) a temperatura de 105°C por 2 horas ou até massa constante. O teor de cinzas foi determinado empregando o método oficial Ba 5a – 49, (AOCS, 2009), em forno do tipo mufla (Lavosier, modelo 400 B). O teor de óleo residual foi determinado pelo método oficial Ba 3 – 38 (AOCS, 2009).

O teor de proteínas das tortas foi determinado pelo método Bc 4 - 91 Micro kjeldahl (AOCS, 2009), de acordo com o tamanho de amostras disponível. O método se baseia nos mecanismos de digestão, destilação e titulação do nitrogênio orgânico que é convertido em proteína bruta utilizando-se o fator de 5,46 para o amendoim e 6,25 para matérias primas que não disponham de informações específicas como a macaúba ou oleaginosas em geral.

O teor de fibra alimentar (solúvel e insolúvel) foi determinado pelo método enzimático-gravimétrico nº 993.43 (AOAC, 2009), cujo princípio consiste na digestão enzimática da amostra, empregando-se α -amílase, pepsina (protease) e pancreatina (amiloglicosidase). Depois da digestão, a fração sólida, contendo fibras insolúveis é

separada da fração sobrenadante, contendo as fibras solúveis. As fibras do sobrenadante são precipitadas com etanol. As frações sólidas contendo as fibras solúveis e insolúveis são analisadas quanto aos teores de cinzas e proteína para subtração do valor de extrato seco obtido (DHINDRA *et al.*, 2012; MINEIRO, 2014, RODRIGUEZ *et al.*, 2012), desta forma quantifica-se fibras solúveis, insolúveis e totais.

A diferença de 100% em relação a soma dos teores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e fibras alimentares totais foi considerada como teor de carboidratos. Todas as determinações foram realizadas em triplicata, sendo obtidos desvios de no máximo 1,92% para todos os farelos. As análises foram realizadas no laboratório de físico-química da Faculdade de Veterinária da UFMG e no Laboratório de Termodinâmica Aplicada a Processos Departamento da Engenharia Química-EEUFMG, as fibras foram analisadas no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Farmácia da UFMG.

4.2.3 Ensaio de solubilidade para as proteínas dos farelos – curva de solubilidade e efeito de diferentes tipos de sais

Para os ensaios de determinação das curvas de solubilidade das proteínas dos farelos, em diferentes pHs e concentração de sais na solução aquosa de extração, foi empregada metodologia semelhante a descrita por GBADAMOSI *et al.* (2012), WU *et al.* (2009) e MA *et al.* (2010). Nos ensaios de solubilidade células de vidro encamisadas com capacidade de 100 mL foram empregadas. As células foram conectadas a um banho termostático (CIENLAB, Modelo CE-160) e para controle de temperatura em 25°C. Nas células foram adicionadas inicialmente o farelo e água destilada na proporção de 1:20 (m/v).

Para cada tipo de torta, 11 experimentos foram conduzidos em diferentes pHs, entre 1 até 12. Os pHs foram ajustados nas células utilizando-se soluções de NaOH ou HCl a 1 mol.dm⁻³. O pH ao longo dos experimentos foi monitorado empregando-se um pHmetro de bancada (digital, modelo PH S-38).

O sistema foi mantido sob agitação por 1 hora, empregando-se agitador magnético (Diag Tech, Modelo DT311OH). Após o tempo decorrido, uma amostra de

sobrenadante foi recolhida e levada para centrifugação a 5000 RPM por 20 minutos a temperatura ambiente, numa centrífuga (Eppendorf, modelo Centrifuge-5430).

O sobrenadante coletado após centrifugação foi analisado quanto ao seu teor de proteínas utilizando-se o método de micro kjeldahl, conforme descrito anteriormente.

É importante salientar que os resultados foram expressos em % de proteína solubilizada (S%) dada pela equação 2.2.

$$S \% = \frac{A (\%) \cdot m_a}{P (\%) \cdot m_p} \cdot 100$$

Equação 2.2

Onde A (%) é o teor de proteína no sobrenadante, m_a é a massa de solução sobrenadante (g), P(%) é o teor de proteínas no farelo e m_p é a massa de farelo (g).

A partir dos resultados, foi possível construir as curvas de S% versus pH para as diferentes condições experimentais.

A Figura 3 ilustra o sistema de extração de proteínas utilizado.

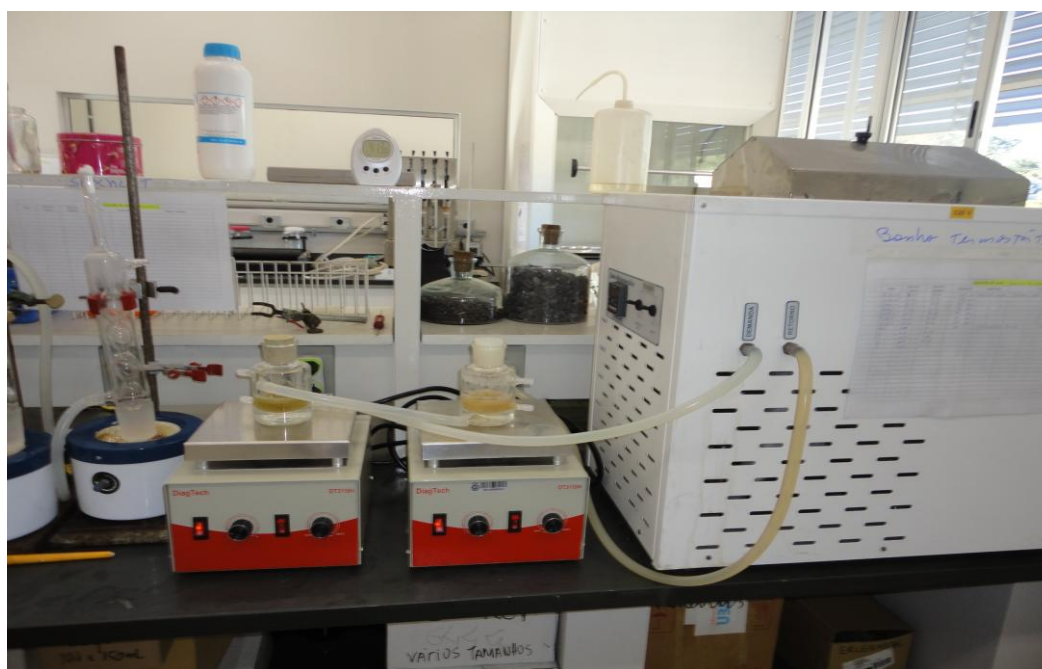


Figura 3- Ensaio de solubilização de proteínas (Fonte: autor).

Os ensaios para avaliação da presença de diferentes teores de sal na solução de extração seguiu o mesmo procedimento descrito acima. Assim, para cada tipo de torta, foram realizados ensaios de solubilidade em diferentes pHs (entre 1 e 12),

para soluções salinas de cloreto de sódio (NaCl) nas concentrações de 0,1; 0,5 e 1,0 mol.dm⁻³

Adicionalmente, com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes tipos de sais na extração de proteínas das tortas experimentos foram conduzidos com os sais Na₂CO₃ e Na₂SO₄, além do NaCl. As concentrações testadas foram de 0,1, 0,5 e 1,0 mol.dm⁻³. Nestes ensaios o pH não foi ajustado, porém todos os outros procedimentos descritos anteriormente foram empregados.

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Termodinâmica Aplicada a Processos do Departamento de Engenharia Química da Escola de Engenharia, EE-UFMG e os reagentes empregados foram da marca Vetec, padrão analítico.

5.RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1.Caracterização da matéria prima

5.1.1 Caracterização granulométrica dos farelos

A Tabela 8 mostra o resultado da caracterização granulométrica para os farelos de amendoim, amêndoa e polpa de macaúba.

Tabela 8 - Caracterização granulométrica dos diferentes farelos.

Peneira (Mesh)	Quantidade de farelo					
	Amendoim (g)	(%)	Amêndoa (g)	(%)	Polpa (g)	(%)
35	342,6	13,1	45,1	2,9	12,9	0,9
40	59,4	2,3	27,3	1,7	22,5	1,6
45	1447,3	55,2	62,7	4,0	22,4	1,6
50	244,1	9,3	96,3	6,1	34,7	2,5
60	209,4	8,0	896,2	56,7	963,8	69,9
70	109,7	4,2	225,8	14,3	162,3	11,8
Fundo	209,7	8,0	226,1	14,3	160,3	11,6
Total	2622,2	100	1579,5	100	1378,9	100

É importante mencionar que os farelos obtidos após a extração de óleos por prensagem mecânica e extração por solvente não foram submetidos a nenhuma operação adicional para redução do tamanho de partícula. O objetivo da caracterização dos farelos obtidos quanto à granulometria das partículas foi o de avaliar sua distribuição, uma vez que esta informação é relevante para os processos de extração em termos dos efeitos sobre a transferência de massa. De um modo geral, o objetivo é não incorporar operações unitárias adicionais ao processo de aproveitamento dos farelos, desta forma, os mesmos seriam utilizados na forma como são obtidos do processamento de óleos.

Contudo, para os ensaios de extração de proteínas abordados neste trabalho, o farelo retido na peneira que obteve maior retenção foi selecionada como matéria prima para os ensaios com objetivo de padronizar o tamanho de partícula utilizada.

Portanto, para o farelo de amendoim a peneira que reteve maior massa de farelo foi a de 45mesh, sendo retido cerca de 55,2% da massa total e para os farelos de polpa e amêndoa de macaúba a peneira de 60 mesh, sendo retido 56,7% e 69,9% da massa total de farelo, respectivamente.

Pela equação 2.1 foi possível calcular o diâmetro médio das partículas dos farelos selecionados. Para o farelo de amendoim o tamanho médio foi de 0,387 mm e para os farelos de polpa e amêndoa de macaúba foi de 0,297 mm. De um modo geral, a literatura reporta que para a extração de proteínas de matrizes sólidas, partículas com tamanho inferior a 1 mm, ou entre 0,01 e 0,5 mm, garantem bom rendimento de extração, dependendo das características da matéria prima (BOYE & BARBARA, 2012; STENZEL *et al.*, 2009). Logo, pode-se dizer que os farelos obtidos atendem aos limites reportados na literatura.

A Figura 4 apresenta os diferentes farelos obtidos e utilizados como matéria prima fonte de proteínas.

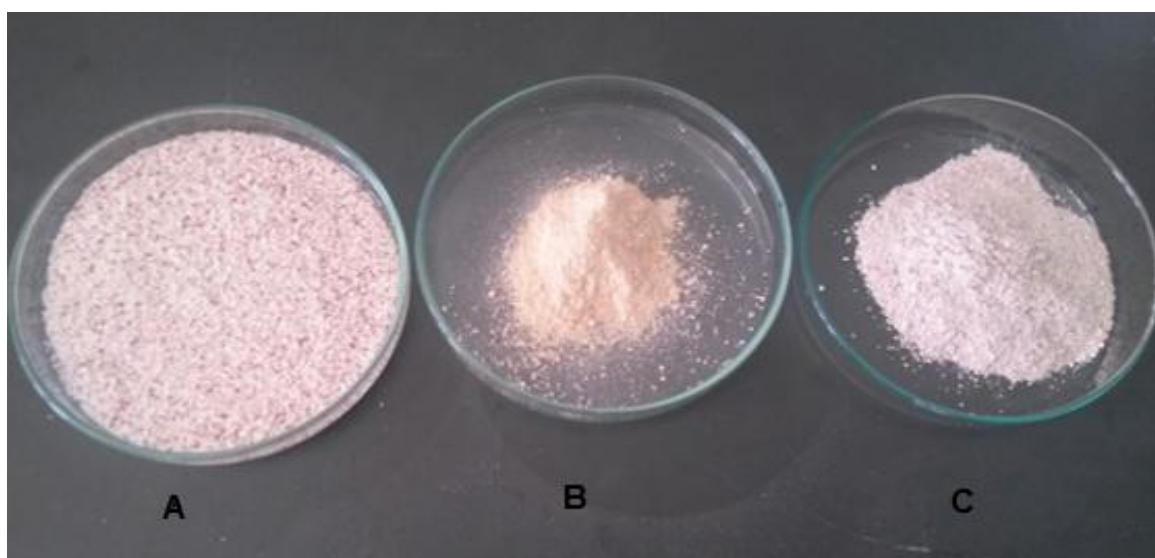


Figura 4: (A) Farelo de amendoim, (B) farelo da polpa de macaúba e (C) farelo da amêndoa de macaúba (Fonte: Fotos do Arquivo do autor).

5.1.2 Caracterização centesimal dos farelos

A Tabela 9 apresenta os resultados obtidos para a caracterização centesimal dos farelos.

Tabela 9 - Composição centesimal dos farelos (% m/m em base seca).

Componentes	Farelo de Amendoim	Farelo de Amêndoa	Farelo de Polpa
Matéria seca	90,36±1,31	89,33±0,92	87,18±0,87
Proteínas	51,74±0,91	26,89±0,48	9,39±0,04
Cinzas	3,82±1,64	4,44±0,06	5,67±0,07
Lipídeos	4,37±0,05	4,20±0,06	4,87±0,52
Fibras insolúveis	17,03±1,39	47,28±0,24	25,75±0,41
Fibras solúveis	2,83±0,43	2,94±0,20	26,20±2,12
Fibras Totais	19,86±0,91	50,22±0,27	51,95±1,26
Carboidratos	20,21±0,97	14,25±0,63	28,12±1,05

Conforme pode ser visto na Tabela 9, o teor de proteínas no farelo de amendoim de 51,74% corresponde a pelo menos metade da composição deste resíduo, o que o torna uma excelente fonte de proteínas para a indústria, assim como a soja, canola, girassol e gergelim, e por isso foi selecionado como matéria prima de comparação para os farelos de macaúba.

O farelo de amêndoa com 26,89 possui metade do teor de proteínas se comparado ao amendoim, o farelo de polpa com 9,39% é o que possui menor teor de proteínas entre todos os resíduos. Geralmente, matérias primas com mais de 5% na base seca de proteínas em sua composição antes de algum processamento, são consideradas potenciais fontes de proteínas segundo CHIESA e GNANSOUNOU (2011). Logo, apesar do menor teor proteico dos farelos de macaúba, quando comparado ao do farelo de amendoim, juntos os farelos contabilizam um conteúdo em proteínas em torno de 36%, (70% do teor encontrado no amendoim) o que classifica os resíduos de macaúba, obtidos do processamento de óleos, como potenciais fontes de proteínas.

É válido destacar que os farelos de macaúba possuem apreciável teor de fibras alimentares, chegando a ser mais que o dobro do teor encontrado no amendoim. A polpa possui composição equilibrada entre fibras solúveis e insolúveis e teor significativo de carboidratos. A amêndoa por sua vez destaca-se pelo teor de fibras insolúveis. Portanto, os resíduos do processamento de óleos da macaúba também são excelentes fontes de fibras alimentares.

Dados na literatura são escassos com relação ao teor de fibras alimentares (solúvel e insolúvel) para diferentes matérias primas, inclusive para as estudadas

neste trabalho. Comparativamente a outras matérias primas, a literatura reporta para as sementes do fruto da palmeira Mabseeli de Oman o conteúdo de fibras alimentares totais de 57,70%, dos quais 52,7% são fibras insolúveis (AL-FARSI & LEE, 2008). Para os resíduos obtidos da extração de óleo de coco (*Cocos nucifera*) a composição de fibras variou de 2,68 a 3,41% para as fibras solúveis e 28,42 a 33,97% para as fibras insolúveis (NG *et al.*, 2010).

Os teores dos diferentes componentes apresentados na Tabela 8 para o farelo de amendoim são compatíveis aos obtidos na literatura que reportam teores de proteína na faixa entre 40 e 60% (base seca). É importante destacar que matérias primas vegetais estão susceptíveis a influência de condições produtivas e regionais, que vão desde o clima, tipo de solo, regime de chuvas, até fase da colheita e idade da planta, além da metodologia analítica empregada para sua determinação o que justifica a variabilidade na composição centesimal reportada (DESSIMONI-PINTO *et al.*, 2010; GALVANI E SANTOS, 2010; HIANE, 2006).

Os autores DHINDRA *et al.* (2012) MINEIRO (2014) afirmam que as proteínas são geralmente encontradas em grandes quantidades em cereais e leguminosas in natura e em sementes de muitas frutas em teores entre 20 e 35 % (base seca) e em outros vegetais e frutos em quantidades que variam entre 1,5 a 2,5% (base seca).

Dados referentes à composição dos farelos de polpa e amêndoa de macaúba reportam a composição das tortas da polpa e amêndoa da macaúba, ou seja, um resíduo com considerável teor de óleo residual.

A Tabela 10 reúne as composições centesimais de tortas e farelos de macaúba. De um modo geral, os teores em proteínas são coerentes aos obtidos na Tabela 9, assim como para a maioria dos demais componentes.

Tabela 10 - Composição centesimal para farelos de macaúba segundo diferentes autores, dados expressos em (% m/m base seca).

Farelos	Umidade	Proteínas	Lipídeos	Cinzas	Fibra bruta	Carboidratos
	4,51 a		4,7 a	3,53 a	46 a	
Polpa macaúba	11,5	5,57 a 8,9	19,75	4,32	58,81	30,18 a 64,7
Amêndoa macaúba	8,2 a	13,69 a	9,23 a	3,66 a		
	12,77	37,97	14,1	4,78	30 a 35	30 a 46,6

Fonte: BORA & ROCHA, 2004; COIMBRA & JORGE, 2011; DESSIMONI-PINTO *et al.*, 2010; LESCANO *et al.*, 2015; LIRA *et al.*, 2013; PERREIRA, 2013; SANTOS, 2011; SILVA, 2009; SOBREIRA, 2011; VERIDIANO, 2012).

É importante observar, que a composição centesimal do farelo de amêndoa se assemelha mais à composição do farelo de amendoim se comparado com o farelo de polpa.

5.1.3. Curvas de Solubilidade para as proteínas dos farelos

Os resultados da solubilidade para obtenção das curvas de solubilidade das proteínas os diferentes farelos encontram-se no Anexo A.

a) Farelo de amendoim

Na Figura 5 são apresentadas as curvas de solubilidade para as proteínas do farelo de amendoim, sob diferentes valores de pH e concentrações salinas de NaCl.

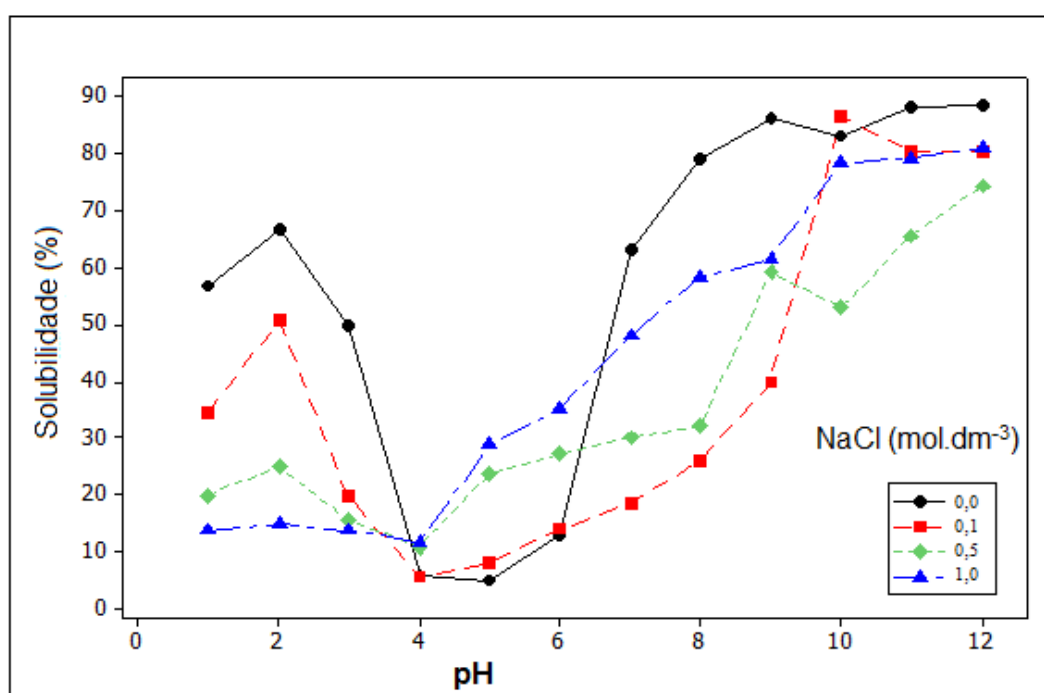


Figura 5 - Curvas de Solubilidade para as proteínas do farelo de amendoim em diferentes concentrações salinas e pH.

Observando a Figura 5, nota-se que para a curva sem adição de sal a mínima solubilidade de proteínas está localizada no pH entre 4 e 5, onde se tem o ponto isoelétrico (p.I.), ou seja, o pH em que as cargas elétricas superficiais totais das proteínas são nulas, logo maior atração entre elas ocorre, gerando a menor solubilidade. Neste ponto a solubilidade correspondeu a 5,05%. Nota-se de um

modo geral, que a faixa de mínima solubilidade para as proteínas é estreita, entre pH 4 e 6.

Observando as curvas da Figura 5 para quando foi adicionado sal na solução de extração, nota-se que no ponto isoelétrico (entre pH 4 e 5), a solubilidade das proteínas aumentaram conforme maior a concentração de sal na solução, chegando a solubilidade de até 30% no pH 5. Este fenômeno é denominado “*salting in*”, quando a solubilidade é aumentada na presença de baixas concentrações de sais. A adição de sal permite que uma camada iônica hidratada seja formada na superfície da proteína, o que gera repulsão entre as proteínas e aumento da solubilidade (DAMODARAN *et al.*, 2010).

Nota-se ainda que na presença de sal, o ponto isoelétrico foi modificado para o pH de 4, provavelmente devido ao efeito da camada iônica superficial formada pela interação com os íons do sal e a proteína, modificando sua distribuição de cargas e interações de repulsão e atração.

Nas curvas da Figura 5 nota-se também um efeito negativo da presença de sal em solução na solubilidade das proteínas fora do ponto isoelétrico (pH 4 e 5), também foi verificado principalmente para a faixa de pH ácida. Este comportamento pode ser explicado, pois, a presença de íons na solução pode alterar a distribuição de cargas na superfície da proteína, que quando fora do ponto isoelétrico pode ser positiva ou negativa. Assim as forças de repulsão, e pontes de hidrogênio que mantinham as moléculas afastadas passam a não existir, dando lugar a forças hidrofóbicas que diminuem a repulsão entre as moléculas, gerando menor solubilidade das mesmas. A queda na solubilidade devido ao efeito do sal no pH de 2 foi de pelo menos 22%. Comportamento semelhante foi observado por IVANOVA *et al.* (2012), MOLINA (2010) e NEVES *et al.* (2006).

Observa-se ainda na Figura 5 que a solubilidade foi maior na ausência de sais em pHs neutros acima de 9, quando observa-se solubilidade das proteínas de no mínimo 85%. Quando em pH ácido de 2 a solubilidade não passou de 70%.

Com o perfil das curvas de solubilidade apresentado na Figura 5, pode-se dizer que as frações de proteínas no farelo de amendoim são predominantemente

de albuminas e globulinas, pois estas se mostram com perfil ácido, ou seja, possuem o ponto isoelétrico abaixo do pH 7, pois, possuem aminoácidos aniônicos predominantemente fazendo parte da estrutura proteica como, Asparagina e Glutamina, em detrimento aos aminoácidos catiônicos como Lisina, Arginina e Histidina. Logo, em pHs básicos (acima de 7) a carga predominante das proteínas tende ser negativa, gerando repulsão entre elas e maior solubilidade e hidratação das mesmas (DAMODARAN *et al.*, 2010; GBADAMOSI *et al.*, 2012; WU *et al.*, 2009).

De um modo geral, a maioria das proteínas dos alimentos são proteínas ácidas, por isso a maior parte das proteínas leguminosas são altamente solúveis em pH alcalino, na faixa de pH entre 8 a 9, fato este em acordo com os resultados obtidos na Figura 5, uma vez que o amendoim é uma leguminosa.

Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de IVANOVA *et al.* (2013) e AROGUNDADE *et al.* (2009) para a solubilidade das proteínas da farinha das sementes de girassol e castanha de caju, respectivamente. O mesmo comportamento também foi verificado para a farinha desengordurada de amendoim (YU *et al.*, 2007 e WU *et al.*, 2009). Estes trabalhos também demonstram que a tendência de maior solubilidade, para a extração de proteínas, é a faixa de pH entre 8 e 10, mesmo considerando a variação de parâmetros operacionais como, temperatura, agitação e tempo de solubilização.

Na produção de concentrados proteicos a partir de farinha desengordurada de amendoim, YU *et al.* (2010) conseguiram recuperar mais de 85% de proteínas da matriz que continha 50% de proteínas. O perfil de solubilidade foi muito semelhante ao obtido neste estudo com p.l. na faixa de pH entre 3,5 e 4,5, e solubilidade máxima em pH igual a 10.

b) Farelo de amêndoa de macaúba

Na Figura 6 estão, apresentadas as curvas de solubilidade para as proteínas do farelo de amêndoa de macaúba, sob diferentes pHs e concentrações salina de NaCl.

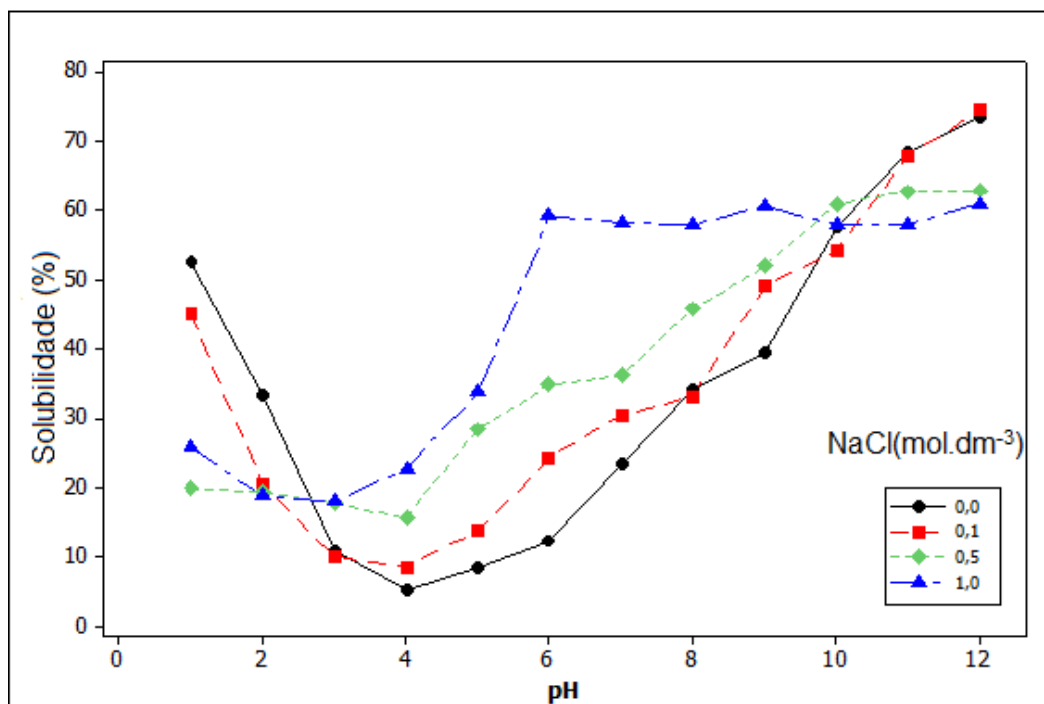


Figura 6 - Curvas de Solubilidade para as proteínas do farelo de amendoa de macaúba em diferentes concentrações salina e pH.

Observando a Figura 6, nota-se que para a curva sem adição de sal, a mínima solubilidade de proteínas está localizada no pH 4, semelhante ao observado para as proteínas do amendoim. Neste ponto, a solubilidade correspondeu a 5,32%. Nota-se de um modo geral, que a faixa de mínima solubilidade para as proteínas de amêndoa de macaúba é mais larga que a observada para as proteínas do amendoim.

Deste modo, nota-se que o efeito da adição de sal foi significativamente positivo para o aumento da solubilidade em ampla faixa de pH, pois o efeito “*salting in*” aumentou a solubilidade em até quase 5 vezes na faixa de pH entre 3 e 10.

De forma semelhante ao observado para as proteínas do amendoim, em pHs abaixo do ponto isoelétrico, a presença de sal diminui a solubilidade das proteínas, conforme maior a força iônica, chegando a reduzir 50% a solubilidade, quando comparado com o sistema sem adição de sal.

Na Figura 6, observa-se que a maior solubilidade da proteína foi obtida para as concentrações salinas de 0 e 0,1 mol.dm⁻³, em pH 12, chegando a solubilizar 70%

das proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. No pH 1 a solubilidade atingiu 50%, na ausência de sal. A partir do pH 6, para a concentração salina de 1 mol.dm^{-3} , a solubilidade manteve-se constante em torno de 60%.

De um modo geral, há um comportamento diferente entre as proteínas presentes no farelo de amêndoa e amendoim, apesar do p.I. ser idêntico, uma menor quantidade de proteínas foi solubilizada do farelo de amêndoa, cerca de 17% menor. Porém, a adição de sal na solução de extração mostrou-se favorável para a extração, aumentando a solubilidade em ampla faixa de pH. Tal comportamento distinto ao observado para as proteínas do farelo de amendoim indica que uma composição variada em proteínas pode compor o perfil proteico do farelo de amêndoa, com predominância de globulinas. Contudo, as maiorias das proteínas são de caráter ácido, uma vez que o p.I. está em pH abaixo de 7 e a maior solubilidade é observada em pHs alcalinos.

Na literatura não são encontradas informações sobre a solubilidade e extração de proteínas de farelos de macaúba.

De acordo com LIU *et al.* (2008), ZHANGCUN *et al.* (2009), ROSSET *et al.* (2014), matrizes com teor elevado de fibras e carboidratos em relação ao conteúdo de proteínas dificulta a extração das mesmas devido a estrutura entrelaçada e complexa das paredes celulares que se mostram rígidas. O aumento da solubilidade é conseguido mediante o uso de condições extremas de extração como temperatura e pH. Como resultado o produto geralmente é de baixa qualidade. Uma alternativa para estes casos é o emprego de enzimas que têm a função de disponibilizar mais facilmente as proteínas para extração.

c) Farelo da polpa de macaúba

Na Figura 7, são apresentadas as curvas de solubilidade para as proteínas do farelo de polpa de macaúba, sob diferentes pHs e concentrações salina de NaCl.

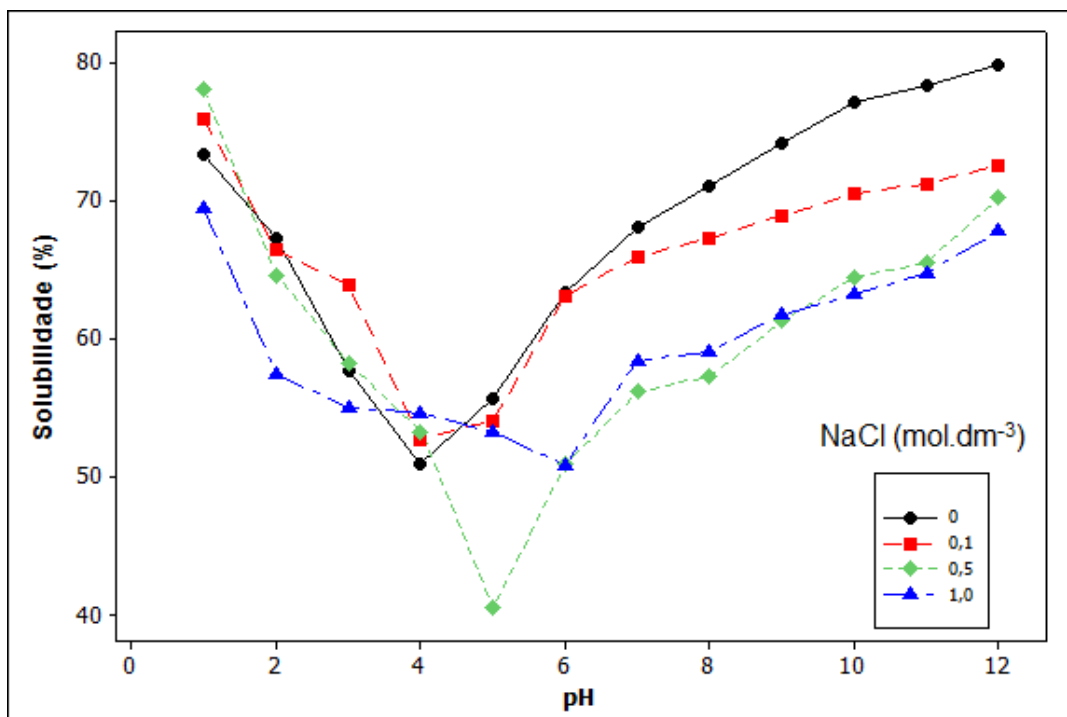


Figura 7 - Curvas de Solubilidade para as proteínas do farelo de polpa de macaúba em diferentes concentrações salina e pH.

A solubilidade das proteínas do farelo da polpa de macaúba mostrou comportamento um pouco distinto das curvas obtidas para os farelos de amêndoa e amendoim, principalmente devido a significativa solubilidade das proteínas em ampla faixa de pH, de pelo menos 50%. É importante mencionar que solubilidades acima de 50% só foram encontrados para os demais farelos em pHs alcalinos (acima de 7) e ácidos (abaixo de 3).

Na Figura 7 observa-se que o ponto isoelétrico das proteínas ocorreu em pH 4, quando a água foi utilizada para extração, valor semelhante ao observado para os outros farelos, contudo, a solubilidade mesmo no ponto isoelétrico foi de pelo menos 50%. A adição de sal ao sistema de extração deslocou o ponto isoelétrico para pH maiores, quanto maior foi a concentração de sal na solução.

Para a curva de solubilidade na ausência de sal, aumentando-se o pH a partir do ponto isoelétrico a solubilidade atinge valor máximo próximo a 80% em pH 12, a mesma tendência é observada quando o pH diminui, a partir do p.I.

Para os diferentes pHs em estudo, a presença de sal prejudicou a solubilidade das proteínas do farelo de polpa, sendo observado uma diminuição de 17% no rendimento de extração no pH 12. Desta forma, pode-se dizer que a adição de NaCl para extração de proteínas dos farelos de polpa não é recomendado, logo pode-se concluir que proteínas do grupo das globulinas não formam a porção majoritária das proteínas que compõem o farelo da polpa.

A presença de sal no ponto isoelétrico contribuiu discretamente para o aumento da solubilidade, aumentando em apenas 7% a solubilidade, quando maior teor de sal foi empregado, um comportamento diferente ao observado para os demais farelos.

De um modo geral, as proteínas presentes no farelo da polpa são em maioria de caráter ácido, pois o p.I. ocorreu em pH 4. Contudo, verifica-se uma solubilidade significativa tanto em pHs ácidos como alcalinos, o que pode sugerir grande variabilidade quanto aos tipos das proteínas presentes neste farelo.

Conforme constatação de BORA & ROCHA (2004) e HIANE (2006) para o farelo de polpa de macaúba, do total dos aminoácidos essenciais e não essenciais, os resíduos de aminoácidos ácidos como o ácido aspártico e glutâmico foram encontrados com teores de 15,1% e 12,65%, respectivamente, enquanto para o farelo de amêndoa de macaúba foram encontrados valores de 7,29% e 26,06%, respectivamente. Em relação aos aminoácidos básicos como arginina e lisina para o farelo de polpa reportam-se valores de 9,27% e 3,25%, respectivamente, enquanto para o farelo de amêndoa, os valores são de 14,9% e 3,85%, respectivamente.

Apesar dos diferentes tipos possíveis de proteínas constituindo os farelos investigados, é sabido que para a maior parte das proteínas vegetais há uma predominância de proteínas do tipo ácidas em sua composição, razão pela qual o p.I. sempre encontra-se na faixa de pH entre 4 a 5 (DAMODARAN *et al.*, 2010; HIANE, 2006).

Outro fato relevante está associado ao teor de fibras solúveis e carboidratos presentes no farelo de polpa, se comparado ao teor de proteínas. Sabe-se que as fibras solúveis são constituídas na sua maioria por gomas, mucilagens, pectinas, e

β -gluconas que possuem resíduos com cargas funcionais como COO^- e SO_3^- , fortemente solúveis em sistemas aquosos (DAY, 2013). Em grande faixa de pH, ao longo da extração, uma solução viscosa se formou, o que pode ter prejudicado a extração de proteínas, principalmente em pHs neutros e alcalinos. No pH ácido, a solução não se mostrou viscosa ao longo da extração, provavelmente devido a hidrólise das fibras solúveis e amido.

A determinação da curva de solubilidade das proteínas, em diferentes condições, para os farelos de polpa e amêndoa de macaúba, é considerado um trabalho pioneiro, não sendo encontrados dados semelhantes na literatura. Por isso, este tipo de estudo, em comparação com o farelo de amendoim, é relevante como primeira etapa tecnológica para descrição da influência de diferentes parâmetros de operação, como, pH e concentração salina da solução de extração, no processo de extração de proteínas de resíduos da macaúba.

5.1.4. Estudo da influência de diferentes sais na solubilidade de proteínas

Conforme visto, as características do meio de extração, como pH, presença de sais, tipo dos sais e ou de solventes, influenciam significativamente a solubilidade das proteínas. O sal NaCl é geralmente o mais utilizado em processos de extração das proteínas por se tratar de um ingrediente alimentar e de fácil obtenção e manipulação. No entanto, diferentes tipos de sais podem influenciar a solubilidade de forma diferente. Desta forma, considerando a mesma concentração salina, os sais bivalentes garantem maior solubilidade das proteínas, devido a maior força iônica. Sabe-se que a força iônica é diretamente proporcional ao quadrado da valência dos íons presentes na solução (DAMODARAN *et al.*, 2010).

Segundo a série de Hofmeister, podem-se classificar os diferentes íons em termos de sua habilidade em precipitar as proteínas, assim, sabe-se que para os ânions o CO_3^{2-} tem maior habilidade de solubilizar as proteínas que o ânion SO_4^{2-} que por sua vez solubiliza melhor as proteínas que o ânion Cl^- (DAMODARAN *et al.*, 2010; ZHANG & CREMER, 2006).

A Tabela 11 apresenta a influência de diferentes sais e concentrações, sobre a solubilidade das proteínas do farelo de amendoim e farelos de polpa e amêndoa de macaúba.

Tabela 11 - Solubilidade de proteínas (S%) para os farelos em diferentes tipos de soluções salinas.

Parâmetros		Amendoim		Polpa		Amêndoa		
Tipo de sal	Concentração (mol.dm ⁻³)	S (%)	pH	S (%)	pH	S (%)	pH	
H ₂ O	0,0	56,39±1,46	6,97	61,19±2,95	5,85	13,79±1,56	6,17	
	0,1	47,76±0,27	6,64	60,13±0,30	5,47	35,28±0,04	6,41	
	Na ₂ SO ₄	0,5	87,55±0,66	6,76	51,10±0,52	5,46	58,54±0,09	6,56
		1,0	68,77±0,27	6,87	50,53±0,11	5,44	49,72±0,04	5,56
Na ₂ CO ₃	0,1	88,18±0,70	10,7	72,45±2,02	9,98	60,31±0,29	10,15	
	0,5	83,71±0,28	10,6	65,01±2,73	10,4	56,75±0,52	10,58	
	1,0	80,76±0,40	10,7	60,52±2,64	10,8	55,88±0,57	10,65	
NaCl	0,1	15,86±0,41	6,60	58,18±1,28	5,56	27,08±1,16	6,41	
	0,5	28,15±1,27	6,39	44,59±0,79	5,31	36,04±0,14	6,40	
	1,0	40,36±0,91	6,42	51,94±1,16	5,27	58,29±2,30	6,35	

Como se pode observar na Tabela 11, os diferentes sais demonstram impacto sobre a solubilidade das proteínas dos diferentes farelos. Os experimentos foram conduzidos sem ajuste de pH da solução salina, por isso uma pequena variação foi observada para os pHs das soluções, contudo é importante mencionar que os sais NaCl e Na₂SO₄ são neutros, por isso a manutenção do pH próximo a 7, exceção para o sistema com polpa de macaúba onde o pH manteve-se 5,5. Contudo, o sal Na₂CO₃ é alcalino, por isso o pH do sistema é mantido em torno de 10 nos sistemas.

Este fato por si só influencia na solubilidade das proteínas, uma vez que para a maioria dos farelos foi observada maior solubilidade em pHs alcalinos. Por este motivo, uma maior solubilidade de proteínas, para todos os casos quando o sal Na₂CO₃ foi empregado. Contudo, devido à força iônica deste sal, o aumento da concentração salina diminuiu ligeiramente a solubilidade das proteínas em até 16%.

DAMODARAN *et al.* (2010) mencionam que a solubilidade proteica decai com o aumento da concentração de sais multivalentes na solução e consequente aumento da força iônica. O mesmo foi observado no trabalho de NEVES *et al.* (2006) para a solubilidade de proteínas de tremoço, em soluções salinas de Na₂CO₃, por SULIMAN *et al.* (2006), na solubilização de proteínas de isolado proteico de

sementes de lentilha, por AROUGUNDADE *et al.* (2009), na solubilização de proteínas de amêndoa de castanha de caju e por GBADAMOSI *et al.* (2012) na solubilização de proteínas da castanha nigeriana (*Tetracarpidium conophorum*).

De um modo geral, a tendência de solubilidade proposta por Hofmeister para os íons investigados foi seguida. Para a concentração de $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$, NEVES *et al.* (2006) observaram um aumento na solubilidade da proteína de tremoço em soluções salinas segundo a ordem $\text{NaCl} < \text{Na}_2\text{SO}_4 < \text{Na}_2\text{CO}_3$, mostrando a influência positiva da presença de íons bivalentes e da força iônica em baixas concentrações salinas.

Para o sal Na_2SO_4 também nota-se que sua presença aumenta a solubilidade das proteínas. A exceção fica para as proteínas de farelo de polpa, onde a presença deste sal em qualquer concentração só diminui a solubilidade. Contudo, pode-se dizer que em concentração de $0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$, a solubilidade da proteína aumentou significativamente, até 76% para o farelo de amêndoa. O aumento da concentração, devido à força iônica do sal também diminui a solubilidade. Mesmo comportamento foi observado para as proteínas do amendoim.

Para o NaCl, sal com menor força iônica, o aumento da concentração tende contribuir para o aumento da solubilidade em todos os casos. Mais uma vez, para as proteínas do farelo de polpa nota-se que a presença de sal prejudicou a solubilidade das proteínas. Para as proteínas de amendoim a presença de NaCl também foi negativa para a solubilidade, pelo menos ao pH de 6,5. Contudo, a presença do NaCl contribuiu para o aumento da solubilidade das proteínas de amêndoa, até 76% que foi a proteína que mais sofreu influencia favorável na presença de sal em ampla faixa de pH, sugerindo uma presença significativa de proteínas do tipo globulinas.

MACHADO *et al.* (2007) observaram para as proteínas de ovo (principalmente albumina), maior solubilidade em soluções de Na_2SO_4 de até $0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$, quando comparado a soluções de NaCl.

Logo, diante dos resultados, o melhor sal a ser empregado para aumentar a solubilidade de proteínas, sem manipulação do pH, é o Na_2CO_3 em concentrações inferiores a $0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$. O emprego de NaCl ou outro sal, justifica-se apenas para o perfil proteico do farelo de amêndoa. De um modo geral, o emprego de soluções

aquosas em pHs alcalinos (acima de 10) mostram-se satisfatórias para a extração de proteínas, mesmo na ausência de sal.

É importante observar que o NaCl é geralmente usado na conservação de alimentos e possui baixo risco de toxicidade, além disso, a manipulação da concentração salina e do pH da solução auxilia na solubilidade das proteínas, sendo que o aumento da concentração dos íons monovalente, também aumenta a solubilidade das mesmas (NEVES *et al.*;2006).

Para o farelo de polpa, devido ao perfil de solubilidade apresentado o emprego de sais ácidos como NaHCO_3 poderiam contribuir para o aumento da solubilidade da proteína. A Figura 8 apresenta um comparativo da solubilidade das proteínas dos farelos, nas diferentes concentrações e tipos de sais.

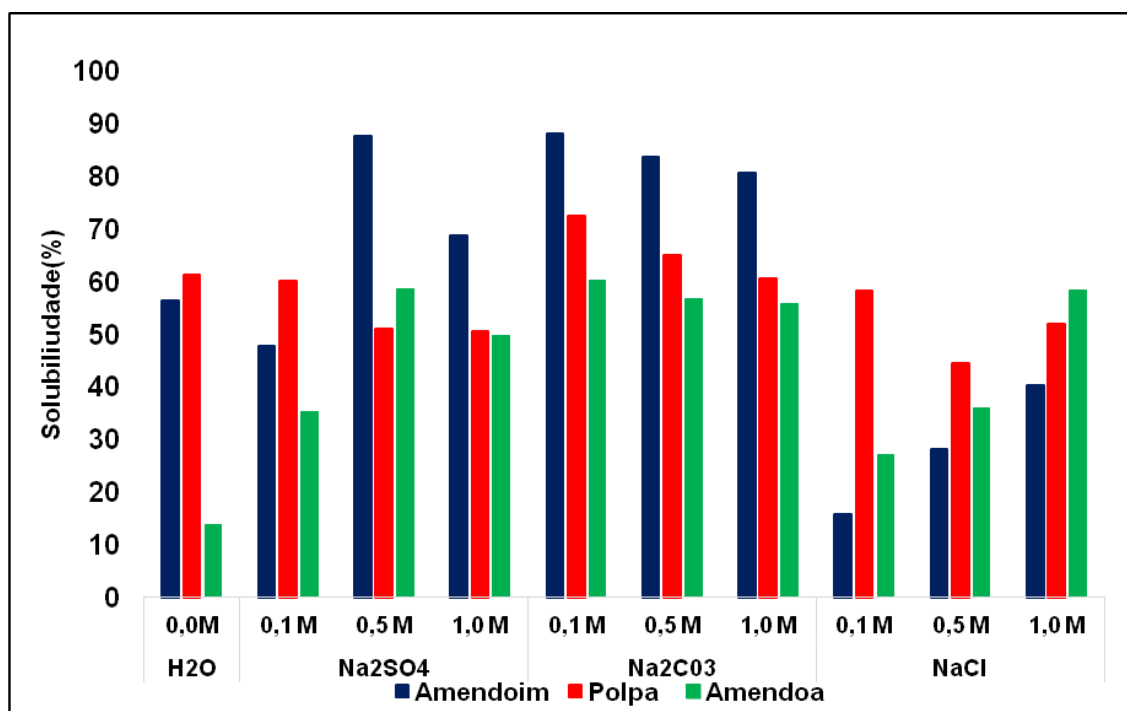


Figura 8- Comparativo da solubilidade das proteínas dos farelos de amendoim, polpa e amêndoa da macaúba em diferentes soluções salinas e concentrações.

A Figura 8 mostra de forma objetiva o comportamento das solubilidades nas diferentes concentrações e tipos de sais. É importante observar que as proteínas da polpa sempre sofreram influencia negativa na presença dos sais exceto na presença do Na_2CO_3 . Logo, sua composição proteica deve conter poucas proteínas do tipo

globulinas. Em contrapartida, as proteínas da amêndoa, em todos os casos, sofreram influencia positiva devido a presença de sais nas soluções de extração, o que indica provável presenças das globulinas.

De um modo geral, os diferentes farelos apresentaram comportamento distinto em presença das diferentes soluções salinas, o que reforça a importância dos estudos caso a caso para o delineamento de processos industriais de forma eficiente e específica.

Os sais bivalentes exercem maior influencia positiva na solubilidade das proteínas, principalmente em concentração de $0,5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. É importante mencionar que o Na_2CO_3 também alterou o pH da solução para faixa alcalina o que implica em maior solubilidade das proteínas, para este caso a extração ultrapassou os 50%, para todos os farelos. Quanto ao NaCl , este sal exerceu influencia negativa na extração de proteínas principalmente de amendoim, o que demonstra a forte influencia do tipo de sal para a solubilização de diferentes proteínas a partir de matrizes diferentes, comportamento contrário foi observado para as proteínas do farelo de amêndoa.

Desta forma, considerando a solubilidade nas soluções salinas formadas, o emprego do NaCl não seria indicado para a extração das proteínas dos farelos investigados, a não ser para o farelo de amêndoa.

6. CONCLUSÃO

O farelo de amêndoa de macaúba apresentou teor de proteínas em torno de $26,28 \pm 0,48\%$, também pode ser considerada fonte de fibras insolúveis. O farelo da polpa de macaúba apresentou conteúdo de proteínas de $9,39 \pm 0,04\%$ sendo importante fonte de fibras alimentares solúveis e insolúveis. Estes valores indicam que os farelos residuais da indústria de processamento de óleos de macaúba podem ser considerados importantes fontes de biomoléculas para aplicação na dieta humana e de animal, ou como ingrediente para as indústrias de cosméticos e fármacos.

As proteínas dos farelos da amêndoa e da polpa de macaúba apresentaram perfis de solubilidade distintos. O perfil de solubilidade para as proteínas do amendoim também foi diferente dos demais farelos, mas mais parecido com o do farelo de polpa, sugerindo que o perfil proteico dos farelos pode ser bem distintas entre as matérias primas estudadas, o que implica em condições de extração diferentes.

O ponto isoelétrico das proteínas situaram-se entre o pH 4 e 5, para todos os farelos, o que indica predominância de proteínas do tipo ácidas na composição dos farelos. As máximas solubilidades foram identificadas em pHs alcalinos, acima de 10. Solubilidade maior foi identificada para as proteínas de amendoim (85%), sendo observada solubilidade semelhante para ambos os farelos de macaúba, acima de 70%. Com relação à presença de sais na solução de extração, no ponto isoelétrico a presença de NaCl aumentou a solubilidade das proteínas devido ao efeito “*salting in*”. O efeito positivo da presença de sais foi mais pronunciado para a extração de proteínas do farelo de amêndoa, sugerindo um teor significativo de globulinas na composição das proteínas deste tipo de farelo.

Seguindo a tendência proposta por Hofmeister, a presença dos diferentes sais na solução de extração de proteínas contribuiu positivamente para o aumento da solubilidade segundo a seguinte sequência: $\text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{Na}_2\text{SO}_4 > \text{NaCl}$. É importante mencionar que para os sais com maior força iônica, o efeito no aumento da solubilidade foi notado apenas para concentrações baixas do sal.

Contudo, a extração de proteínas dos farelos apresentou maior rendimento de extração quando empregado soluções alcalinas, na ausência de sal, na região de pH acima de 10. Assim, o capítulo que segue pretende avaliar o efeito de diferentes parâmetros de processo sobre a extração, com o objetivo de maximizar o rendimento de extração através da otimização das condições dos parâmetros de operação do processo.

CAPITULO III: OTIMIZAÇÃO DE FATORES QUE INFLUENCIAM A EXTRAÇÃO QUÍMICA DE PROTEÍNAS

1. INTRODUÇÃO

Na cadeia produtiva de oleaginosas, os resíduos gerados da extração de óleos vegetais, principalmente tortas e farelos, possuem um potencial de aplicação e aproveitamento nas indústrias de alimentos, fármacos e cosméticos, devido a presença de proteínas, fibras e outros biocompostos de valor agregado em suas composições (BACHIR BEY *et al.*, 2014; HOJILLA-EVANGELISTA *et al.*, 2013; IVANOVA *et al.*, 2012).

Contudo, para o aproveitamento adequado das tortas e farelos é necessário investigar e definir processos e tecnologias eficientes e sustentáveis, que possam integrar e acrescentar valor ao resíduo e os produtos obtido a partir destes. Os processos de extração de proteínas e de outros biocompostos, em geral, são influenciados por vários fatores como: a razão sólido:solução, o pH do meio de extração, a temperatura, o tipo de solvente, a força iônica da solução, o tempo de processo, dentre outros (PERICIN *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2012; SELLING *et al.*, 2013; WANI *et al.*, 2008).

Assim, para avaliar a eficiência e a aplicabilidade de um processo é importante identificar como e quanto cada fator influencia no mesmo. O planejamento experimental constitui uma importante ferramenta estatística para o alcance deste objetivo, uma vez que permite estudar os efeitos simultâneos de vários fatores de operação, associados a uma resposta ou objetivo do processo (BACHIR BEY *et al.*, 2014; SUN *et al.*, 2008; SUN *et al.*, 2009; TENG *et al.*, 2014; WANI *et al.*, 2006; WANI *et al.*, 2008).

No presente capítulo o objetivo foi avaliar os efeitos de 4 fatores operacionais: razão sólido:solução, concentração salina da solução, temperatura e pH do meio, no rendimento de extração de proteínas dos farelos, via extração química.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Planejamento experimental no estudo da extração de proteínas

O planejamento experimental é uma ferramenta extremamente importante quando se pretende melhorar o desempenho de um processo industrial, investigar novas fontes de matérias primas e desenvolver novos produtos e processos, a fim de explicitar quais são os impactos ou efeitos de determinados fatores na resposta pretendida, e sua consequente otimização (BEZERRA *et al.*, 2008; CAMARGO *et al.*, 2009; MONTGOMERY, 2009; SANTOS, 2014; SUSSMANN *et al.*, 2013; SILVA, 2008; TAN *et al.*, 2014; WEISSMAN & ANDERSON, 2014).

O planejamento fatorial vem sendo largamente empregado na investigação de processos industriais, por apresentar vantagens como, alta eficiência das estimativas obtidas pelo método (descrição do processo por modelos matemáticos) e por realizar o estudo simultâneo de vários parâmetros de operação, com menor número de experimentos, o que permite detectar de forma rápida e eficiente quais e como os fatores realmente influem no processo, poupando assim recursos como, tempo, dinheiro e material. É também uma metodologia recomendada para a fase inicial ou exploratória de um processo, quando muitos fatores devem ser investigados (BAS & BOYACI, 2007; FERREIRA *et al.*, 2007; SERINOLI, 2009; SUN *et al.*, 2008; WEISSMAN & ANDERSON, 2014).

De acordo com BRASIL (2010), o sucesso da aplicação da técnica de planejamento experimental para investigação de um processo passa necessariamente por uma escolha coerente e bem definida dos fatores e limites dos níveis a serem investigados (BOX, HUNTER & HUNTER, 2005; MORREIRA, 2009; SUBROTO *et al.*, 2015; SULAIMAN *et al.*, 2013).

Desta forma, diferentes são os fatores que influenciam na solubilidade e extração das proteínas de uma matriz, sendo assim, para a concepção de um processo tecnológico industrial eficiente, é indispensável conhecer como os diferentes fatores intrínsecos e extrínsecos do processo interagem e interferem no bom desempenho do mesmo. O alcance da eficiência ótima do processo está intimamente ligado com a definição e controle dos parâmetros ou variáveis de processo (FRANCO & FILHO, 2011; SONG *et al.*, 2011).

2.2. Extração química de proteínas

A extração por solventes sejam estes orgânicos ou aquosos é uma técnica largamente utilizada na indústria para extração/separação de diferentes moléculas e componentes de suas matrizes. No caso das proteínas, o princípio de solubilidade destas moléculas em diferentes meios é utilizado. De um modo geral, a maioria das proteínas de origem vegetal possui caráter ácido, logo são solubilizadas em meios alcalinos e muitas vezes em presença de sais. Portanto, uma das técnicas mais comumente empregada para a extração de proteínas é a extração por via química em meio alcalino, na presença ou ausência de sais. A partir da extração química de proteínas é possível obter-se extratos proteicos e isolados proteicos para aplicação em diferentes áreas.

Além da influencia dos fatores já mencionados, a eficiência do processo de extração está intimamente ligada com as características da matéria-prima. Com isso, o emprego da técnica de planejamento experimental para investigar o efeito das diferentes variáveis que influenciam no rendimento da extração, mostra-se relevante, principalmente na fase inicial de estudos de uma nova matéria prima, como é o caso da macaúba (BOYE & BARBARA, 2012; BRASIL, 2010; MA *et al.*, 2010).

Na literatura pode-se encontrar diversos estudos sobre otimização e avaliação de efeitos de parâmetros de processos na extração de proteínas de várias matérias primas como, amendoim, soja, canola e gergelim, empregando a metodologia de superfície de resposta (MSR). Contudo, não são encontrados dados sobre o estudo do processo de extração das proteínas de macaúba, que como anteriormente visto, trata-se de uma matéria prima com grande potencial de aproveitamento pela indústria devido seu apreciável teor em lipídeos e outros componentes como fibras e proteínas. Assim, para outras matérias primas seguem os resultados de planejamento fatorial e otimização dos principais fatores.

MA *et al.* (2010) investigaram a influência da proporção sólido:solução, teor de água no solvente e temperatura, na extração de proteínas do farelo de amendoim utilizando etanol como solvente. Os resultados mostraram que na condição ótima de extração um rendimento em proteínas de 65,48% foi obtido. Os parâmetros que

mais na influenciaram no rendimento foram a temperatura e o teor de água no solvente. O rendimento ótimo foi obtido quando os parâmetros foram fixados em: proporção sólido:solução de 1:12, teor de água no solvente de 15% e temperatura de 36,35°C.

No trabalho de OLIVEIRA e GOMES (2005), sobre a otimização de parâmetros do processo para a extração de proteínas de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) foram obtidos para o processo químico de extração os seguintes parâmetros otimizados: temperatura na faixa de 49 – 51 °C, pH da solução entre 3,8 – 5 e teor de NaCl na solução entre 10 – 12 % (m/v).

AGUIAR *et al.* (2009) estudaram a otimização multivariada da extração das proteínas do farelo de soja empregando soro de leite bovino e observaram que o aumento da temperatura durante a extração, até 80 °C, aumentou o rendimento de extração das proteínas. Outros parâmetros que influenciaram na extração foram o pH da solução e a concentração de NaCl na solução. O aumento no valor destes parâmetros (pH de 11,2 e concentração de NaCl de 6,8%) aumentou o rendimento de extração.

Na obtenção de isolados proteicos a partir da farinha de amaranto, REIS e NETTO (2006) utilizaram a extração química alcalina, sendo reportado um rendimento de extração máximo de 24% quando a extração ocorreu nas seguintes condições, pH de 9 e ausência de sal na solução de extração.

QUANHONG & CAILI (2005) estudaram a extração de proteínas a partir de sementes de abóbora, usando como técnica a metodologia de superfície de resposta para avaliar o efeito e otimizar os parâmetros da extração. A variável de maior efeito sobre o rendimento da extração foi a razão sólido:solução. Os parâmetros ótimos foram: razão de sólido:solução de 1:30, concentração de sal na solução (NaCl) de 4,26 % e tempo de extração de 18 minutos, sendo obtido nestas condições um rendimento máximo de 7,84 gramas da proteína solúvel/100 gramas de amostra.

PERICIN *et al.* (2008) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para avaliar os efeitos dos parâmetros de extração como pH, concentração salina da solução (NaCl) e temperatura sobre o rendimento da extração de proteínas de sementes de abóbora. Os autores concluíram que a concentração salina da solução de extração foi o parâmetro que mais influenciou no rendimento de extração, quanto maior a concentração. Os valores otimizados para os parâmetros investigados

foram: pH de 7,69, concentração de NaCl de 3,99 % e temperatura de 54 °C, sendo observado um rendimento máximo de 9,09 mg de proteína/ml de solução.

WANI *et al.* (2006) investigaram os efeitos dos parâmetros de extração, a saber, concentração da solução de extração (NaOH), tempo de extração, temperatura e razão sólido:solução, sobre o rendimento de extração das proteínas das sementes de melancia, empregando a metodologia de superfície de resposta. No estudo foi concluído que a concentração da solução foi o parâmetro que mais influenciou no rendimento do processo, seguido do parâmetro razão sólido:solução com efeito positivo, ambos com efeito positivo. Os valores ótimos para os parâmetros investigados foram: concentração de NaOH de 0,12 mol.dm⁻³, razão sólido:solução de 1:70, temperatura de 40 °C e tempo de extração de 15 minutos, nestas condições o rendimento máximo foi de 86,08 %.

MUNE *et al.* (2008) estudaram as condições ideais para obtenção do isolado proteico, a partir da farinha de feijão caupi, através da metodologia de superfície de resposta. As condições ótimas para maximização do rendimento foram, pH de 9 e concentração de NaCl de 0,15 mol.dm⁻³, sendo obtido um rendimento máximo de 87% de proteínas.

WANG *et al.* (2011) estudaram a otimização de parâmetros de processo para a extração de proteínas do feijão mungo, empregando o planejamento fatorial simples. O rendimento máximo de extração das proteínas de 77,60% foi obtido nas condições de pH de 8,97, temperatura de 32°C, razão sólido:solução de 1:10 e tempo de processo de 33 minutos.

SILVA *et al.* (2012), estudaram a influência de diferentes parâmetros na extração de ricina das tortas de mamona, utilizando a metodologia de superfície de resposta. O rendimento máximo de extração desta proteína foi de 6,99 mg de proteína/100 gramas de torta, nas seguintes condições de processo, pH de 7,4 e concentração de sal na solução de extração (NaCl) de 1,7 mol.dm⁻³.

JARPA-PARRA *et al.* (2014) utilizaram a metodologia de superfície de resposta para estudar os efeitos e otimizar os parâmetros de processo para maximização do rendimento de extração de proteínas do farelo de lentilha. O parâmetro que mais influenciou positivamente no rendimento de extração foi a razão sólido:solução, seguido do pH. O rendimento máximo de 14,5 g de proteína/100

gramas de farinha foi obtido nas condições de razão sólido:solução de 1:10, (m/v) e pH de 9.

PARIMI *et al.* (2015) relatam no estudo sobre a extração de proteínas da biomassa de *Spirulina platensis* cianobactérias, empregando a metodologia de superfície de resposta, que os parâmetros otimizados que maximizam a extração foram pH de 11,38, tempo de extração de 35 minutos e concentração de biomassa de 3,6 %(m/m), com rendimento de 60,7%.

É importante observar que apesar dos estudos de otimização e avaliação de efeitos de parâmetros de processo para a extração de proteínas serem comuns, sabe-se que a característica e composição da matéria prima, assim como o seu comportamento durante o processo, influenciam significativamente nos resultados obtidos. Desta forma, para que um processo seja utilizado de forma eficiente é importante considerar as particularidades, limitações e contexto de cada matéria prima frente ao processo proposto, a fim de obter resultados viáveis para a aplicação industrial. Mais uma vez destaca-se que a literatura não reporta informações sobre processos de extração de proteínas a partir de farelos de macaúba.

3. OBJETIVOS

Objetivo Principal

No presente capítulo, pretende-se estudar a influência da variação de diferentes parâmetros de processo sobre o rendimento de extração de proteínas via química dos farelos de amendoim e polpa e amêndoa de macaúba, empregando a metodologia de superfície de resposta para otimização dos parâmetros investigados.

Objetivos específicos

- Estudo de efeitos dos parâmetros de processo, a saber, pH, concentração de sal na solução (NaCl), temperatura e razão sólido:solução, sobre a resposta rendimento de proteínas extraídas – Planejamento experimental 2⁴.

- Aplicação da metodologia de superfície de resposta para obtenção de modelo empírico que descreve o comportamento da extração de proteínas via química – Otimização de parâmetros de processo.

4. MATÉRIAS E MÉTODOS

4.1. Matérias

Todos os, materiais, equipamentos e reagentes utilizados nos ensaios foram os mesmos descritos anteriormente no capítulo II.

4.2. Métodos

4.2.1 Planejamento experimental estatístico

Para o estudo de avaliação de efeitos e otimização de parâmetros de processo na extração de proteínas, as variáveis consideradas para estudo, assim como as faixas de valores foram baseadas em trabalhos de extração de proteínas reportados na literatura (BOYE & BARBARA, 2012; STENZEL *et al.*, 2009).

Os parâmetros de processo mantidos fixos foram o tamanho de partícula (0,35 mm para farelo de amendoim e 0,25 mm para farelos da polpa e amêndoa de macaúba), o tempo de processo de 1 hora e a velocidade de agitação do sistema de extração entre 200 a 250 RPM.

Assim, os parâmetros variáveis investigados foram: o pH, a temperatura, a concentração de NaCl na solução de extração e a razão sólido:solução, considerando a variação em 2 níveis além do ponto central, conforme apresentado na Tabela 12.

Para o estudo da influência da variação dos parâmetros sobre o rendimento de extração (R) das proteínas dos farelos, um planejamento experimental 2^4 , com 3 pontos centrais, totalizando 19 experimentos, foi conduzido de forma aleatória de acordo com a Tabela 13.

É importante mencionar que a partir dos resultados obtidos para os efeitos das variáveis sobre a função resposta, rendimento de extração, o estudo de otimização dos parâmetros significativos para o processo foi conduzido utilizando-se planejamento experimental completo com pontos axiais e análise dos resultados por superfície de resposta.

Tabela 12 - Parâmetros do planejamento experimental e respectivos níveis de estudo.

Variáveis independentes	Codificadas	Níveis		
		(-1)	(0)	(+1)
Concentração de NaCl (mol.dm ⁻³)	X1	0	0,50	1,0
Razão sólido:solução (m/v)	X2	1:20	1:50	1:80
Temperatura (°C)	X3	25	35	45
pH	X4	9	10,5	12

Tabela 13- Matriz do planejamento experimental com as combinações empregadas em cada ensaio.

Tratamento Ordem	Variáveis não Codificadas				Variáveis Codificadas			
	C (mol.dm ⁻³)	R (m/v)	T (°C)	pH	X1	X2	X3	X4
11	0	1:20	25	9	-1	-1	-1	-1
3	1	1:20	25	9	1	-1	-1	-1
7	0	1:80	25	9	-1	1	-1	-1
9	1	1:80	25	9	1	1	-1	-1
12	0	1:20	45	9	-1	-1	1	-1
17	1	1:20	45	9	1	-1	1	-1
2	0	1:80	45	9	-1	1	1	-1
13	1	1:80	45	9	1	1	1	-1
4	0	1:20	25	12	-1	-1	-1	1
10	1	1:20	25	12	1	-1	-1	1
1	0	1:80	25	12	-1	1	-1	1
8	1	1:80	25	12	1	1	-1	1
12	0	1:20	45	12	-1	-1	1	1
15	1	1:20	45	12	1	-1	1	1
6	0	1:80	45	12	-1	1	1	1
19	1	1:80	45	12	1	1	1	1
5	0,5	1:50	35	10,5	0	0	0	0
14	0,5	1:50	35	10,5	0	0	0	0
18	0,5	1:50	35	10,5	0	0	0	0

4.2.2 Ensaio de Extração de proteínas dos farelos

Para a realização dos experimentos descritos no planejamento experimental (Tabela 13) foram conduzidos ensaios semelhantes aos descritos na literatura por WU *et al.* (2009) e MA *et al.* (2010).

Nos experimentos de extração de proteínas a partir dos farelos, células de vidro encamisadas, para controle da temperatura de extração, foram utilizadas. A temperatura do sistema de extração foi controlada e mantida por banho termostático (CIENLAB, Modelo CE-160). Nas células foram adicionadas proporções de sólido:solução (m:v), conforme definido pelo planejamento experimental. A solução salina foi preparada com água destilada e NaCl na concentração indicada conforme cada experimento do planejamento. O pH da solução foi ajustado utilizando-se um pHmetro (marca PH S-38) e solução de NaOH (2 mol.dm^{-3}) ou HCl (2 mol.dm^{-3}).

À célula com capacidade de 100 mL adicionou-se o farelo e após a solução salina, o pH do sistema foi novamente verificado e se necessário ajustado e corrigido para o valor definido para cada experimento. Uma variação máxima de $\pm 0,25$ foi observada para o pH ao longo do processo de extração. O sistema foi então mantido sob agitação empregando-se agitador magnético (Diag Tech, Modelo DT311OH) durante 1 hora. Após este período, o conteúdo da célula foi coletado e levado para centrifugação em centrífuga de bancada (Eppendorf, modelo Centrifuge-5430) a 7500 RPM por 20 minutos a temperatura ambiente. Uma amostra de 10 mL sobrenadante foi coletada para análise do teor de proteínas solúveis em solução. Todas as análises foram realizadas em triplicata, segundo metodologia descrita anteriormente no capítulo II. O rendimento em proteínas extraídas R foi obtido na forma de (S) segundo equação 2.2.

4.2.3 Tratamento estatístico dos dados

Todos os resultados do estudo de planejamento experimental (primeira e segunda etapa) foram analisados empregando-se o Software Statistica 7.0 e Minitab 16. Os parâmetros otimizados através da metodologia de superfície de resposta foram avaliados e analisados estatisticamente através do software STATISTICA 7.0. Os efeitos foram analisados de acordo com o teste t-Student e p-valor.

A partir do estudo de otimização por superfície de resposta, os dados experimentais puderam ser descritos pelo modelo empírico de segunda ordem cuja forma codificada é apresentada pela equação (3.1)

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_{ii}^2 + \sum_{j=1+1}^2 \beta_{ij} X_i X_j \quad \text{Equação 3.1}$$

Onde Y representa a função resposta a ser maximizada, neste caso o rendimento de extração (R) β_0 é o coeficiente do intercepto, β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes lineares, quadráticos e interação entre variáveis codificadas X_i e X_j . O modelo de segunda ordem foi analisado de acordo com teste F (ANOVA) e o coeficiente de determinação R^2 e testes de falta de ajuste. O nível de significância considerado foi de $p = 0,05$, ou seja, 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Ensaio do planejamento experimental 2⁴ - avaliação de efeitos dos parâmetros de processo.

Os resultados dos ensaios do planejamento experimental fatorial 2⁴, rendimento de extração de proteínas (R%), para os diferentes farelos, são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Rendimento de proteína extraída para os ensaios do planejamento experimental 2⁴.

Ordem	Variáveis Codificadas				Rendimento (%)		
	X1	X2	X3	X4	Amendoim	Amêndoa	Polpa
11	-1	-1	-1	-1	80,93±0,32	55,26±0,33	68,88±0,91
3	1	-1	-1	-1	74,74±0,72	59,52±0,78	63,34±1,17
7	-1	1	-1	-1	90,41±1,32	64,72±1,22	94,16±1,01
9	1	1	-1	-1	85,34±0,70	69,70±0,81	84,13±1,37
12	-1	-1	1	-1	82,70±0,65	49,69±0,62	76,65±1,14
17	1	-1	1	-1	58,01±0,69	60,61±0,39	59,36±0,67
2	-1	1	1	-1	95,23±0,96	61,95±1,61	98,23±0,83
13	1	1	1	-1	92,48±1,54	72,81±1,06	84,04±1,28
4	-1	-1	-1	1	96,56±0,22	83,28±1,13	90,88±1,56
10	1	-1	-1	1	83,95±0,71	61,89±1,84	59,35±1,74
1	-1	1	-1	1	96,74±0,85	84,99±1,47	98,96±1,07
8	1	1	-1	1	95,15±0,90	73,69±1,26	87,49±0,88
12	-1	-1	1	1	87,70±0,78	90,48±0,75	79,61±0,54
15	1	-1	1	1	68,59±0,51	67,29±0,41	65,58±1,62
6	-1	1	1	1	98,14±0,82	92,57±0,92	98,32±1,35
19	1	1	1	1	91,37± 1,25	76,49±0,90	87,49±1,51
5	0	0	0	0	81,26±0,76	63,66±1,01	77,06±0,97
14	0	0	0	0	81,25±0,94	63,72±1,08	77,01±0,87
18	0	0	0	0	80,05±0,44	62,58±1,25	76,43±1,06

Uma avaliação dos resultados da Tabela 14 pode-se constatar que no geral, a extração de proteínas do farelo de amendoim foi maior se comparado aos demais farelos, para diferentes condições de extração. Os menores rendimentos de extração foram observados para o farelo de amêndoa. Contudo, nota-se que um rendimento de pelo menos 92% foi obtido para os farelos quando a condição de extração foi mantida no mínimo para concentração salina na solução e máximo para os demais parâmetros, temperatura, pH e razão sólido:solução.

Nota-se também na Tabela 14 que o menor rendimento ocorreu em condições diferentes para os farelos, contudo, para todos os farelos, o emprego de razão sólido:solução mínimo gerou mínimo rendimento de extração.

Observado as repetições no ponto central, pode-se perceber mínima variação, o que indica que os experimento foram conduzidos de forma a gerar resultados com o mínimo de interferência de erros experimentais.

A seguir, serão apresentados e discutidos os resultados da avaliação estatística dos resultados obtidos no planejamento experimental para cada tipo de farelo.

5.1.1 Farelo de amendoim

A Tabela 15 abaixo mostra os efeitos principais e os efeitos de interação dos parâmetros investigados, considerando o Erro Puro no intervalo de confiança de 95% e p-valor de 0,05. Os parâmetros e suas interações, que possuem p-valor inferior a 0,05, são considerados estatisticamente significativos e aparecem na cor vermelha.

Tabela 15 - Efeitos dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração obtido com base no planejamento experimental 2^4 para o farelo de amendoim.

Fator	Efeitos	Erro Puro	T	p-valor	-95%	95%
Mean/Interc.	86,1275	0,17393	495,181	4E-06	85,3791	86,8759
Curvatura	-10,548	0,87543	-12,049	0,00682	-14,315	-6,7816
Concentração (X1)	-9,8475	0,34786	-28,309	0,00125	-11,344	-8,3508
Razão (X2)	13,96	0,34786	40,1308	0,00062	12,4633	15,4567
Temperatura (X3)	-3,7	0,34786	-10,636	0,00872	-5,1967	-2,2033
pH (X4)	7,295	0,34786	20,9709	0,00227	5,7983	8,79173
X1 * X2	5,8025	0,34786	16,6804	0,00358	4,3058	7,29923
X1 * X3	-3,4825	0,34786	-10,011	0,00983	-4,9792	-1,9858
X1 * X4	-0,1725	0,34786	-0,4959	0,66911	-1,6692	1,32423
X2 * X3	6,095	0,34786	17,5213	0,00324	4,5983	7,59173
X2 * X4	-2,81	0,34786	-8,0779	0,01498	-4,3067	-1,3133
X3 * X4	-2,95	0,34786	-8,4804	0,01362	-4,4467	-1,4533
X1*X2*X3	2,7675	0,34786	7,9557	0,01544	1,2708	4,26423
X1*X2*X4	0,0375	0,34786	0,1078	0,92399	-1,4592	1,53423
X1*X3*X4	0,5625	0,34786	1,617	0,24727	-0,9342	2,05923
X2*X3*S4	-0,635	0,34786	-1,8254	0,20948	-2,1317	0,86173

R² = 0,9974

Pode-se observar na Tabela 15 que todos os parâmetros investigados possuem efeito significativo sobre a função resposta, ou seja, sobre o rendimento de extração. Nota-se ainda, que os vários parâmetros interagem entre si, aos pares, influenciando de forma diferente a extração de proteínas do farelo de amendoim.

Avaliando o valor dos efeitos principais percebe-se que os parâmetros X1 (concentração de sal na solução) e X3 (temperatura), possuem influência negativa sobre a função resposta, ou seja, maximizam a resposta quando os níveis mínimos são utilizados. De forma contrária influenciam os parâmetros X2 (razão sólido:solução) e X4 (pH), ou seja, possuem influência positiva e maximizam a resposta quando os valores dos níveis são máximos. Como alguns efeitos de interação entre as variáveis se mostraram significativos, estas interações entre variáveis exercem influencia no rendimento do processo.

O diagrama de Pareto apresentado na Figura 9, mostra de forma clara, quais são os parâmetros com maior efeito sobre a função resposta rendimento de extração (R %). A partir do diagrama é possível visualizar a magnitude dos efeitos dos parâmetros, representados pelas colunas. Os parâmetros representados pelas

colunas que ultrapassam a linha vermelha transversal são considerados parâmetros com efeito significativos no intervalo de confiança de 95%.

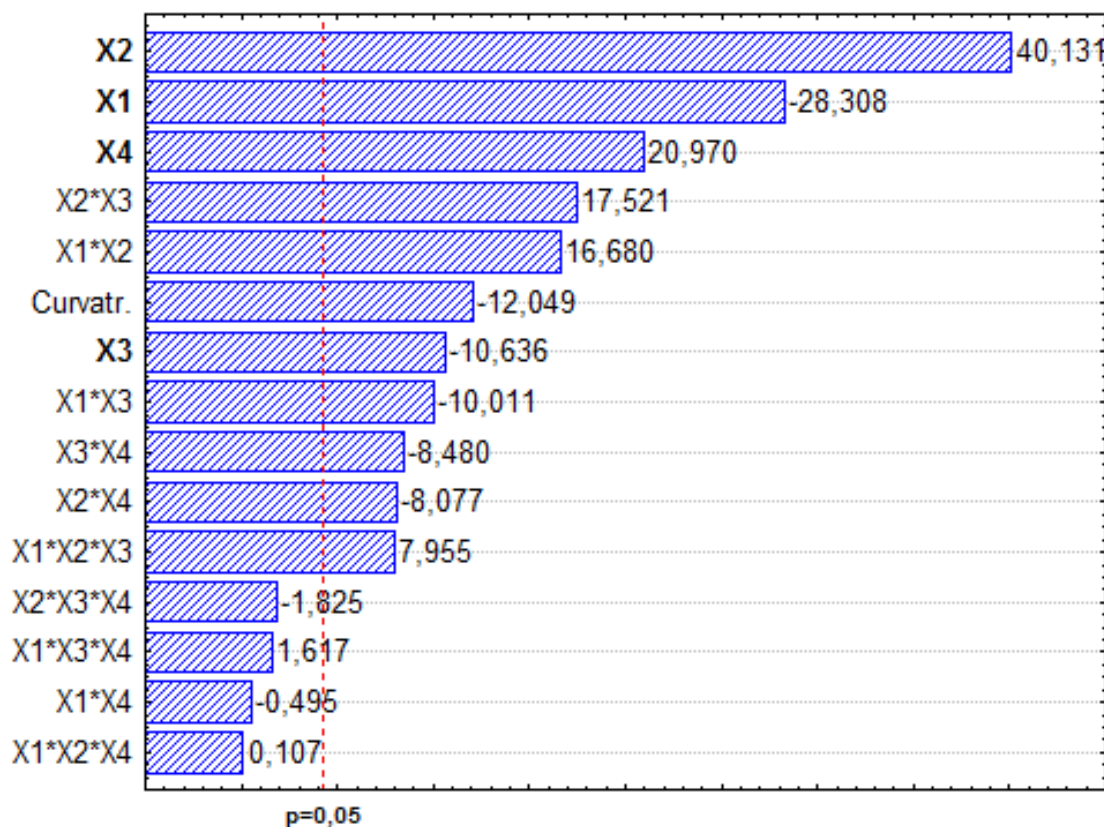


Figura 9 - Diagrama de Pareto para os efeitos dos parâmetros de processo na extração de proteínas do farelo de amendoim, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.

Na Figura 9 diagrama de Pareto para o farelo de amendoim, observa-se que o parâmetro com maior influência sobre o rendimento de extração foi o X2 (razão de sólido:solução), seguido de X1 (concentração de sal na solução), X4 (pH) e por último X3 (temperatura).

As interações dos parâmetros mais importantes, ou que exerceram maior influência sobre o rendimento, de forma positiva, foram as interações entre razão sólido:solução e temperatura (X2*X3) além de, concentração de sal na solução e razão sólido:solução (X1*X2) provavelmente devido a maior disponibilidade de solução onde a proteína pode se solubilizar, além das possíveis interações iônicas entre soluto (sal em solução) e as proteínas. Ou seja, o efeito do aumento da razão sólido:solução contribui mais significativamente para o aumento do rendimento

quando o parâmetro temperatura é mantido no máximo. Da mesma forma, o efeito do aumento da concentração salina aumenta mais significativamente o rendimento de extração quando a razão sólido:solução é mantida no máximo.

Na Figura 10, pode-se observar a força dos efeitos dos parâmetros de processo quando variados sobre a maximização da função resposta, rendimento de extração, considerando a faixa de valores investigados.

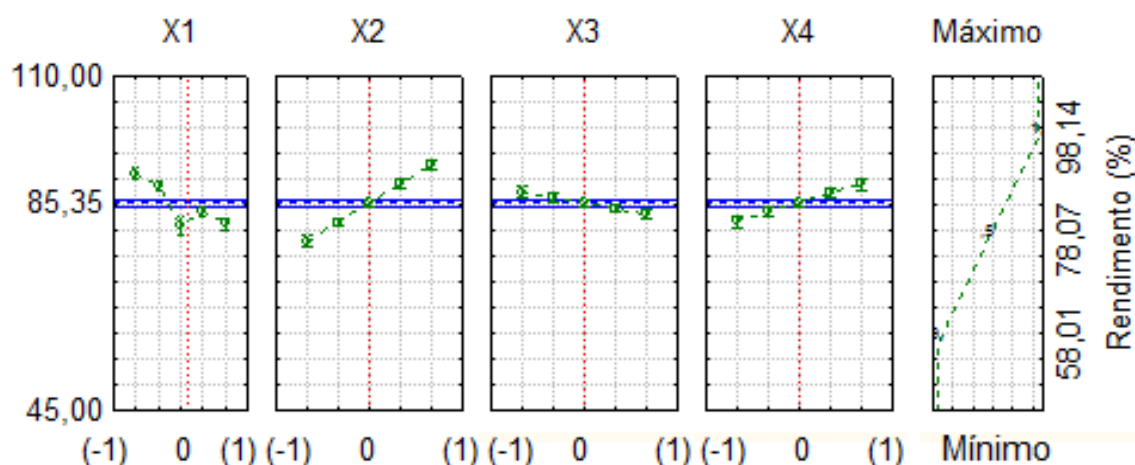


Figura 10 - Intensidade e tendência da influencia da variação dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.

Na Figura 10 nota-se que para o farelo de amendoim um rendimento de extração mínimo de 58% e máximo de 98% é obtido conforme os parâmetros de processo são variados. Desta forma, fica demonstrado que a combinação adequada entre os diferentes parâmetros de operação do processo pode influenciar positiva e significativamente no desempenho e viabilidade do processo, por isso o estudo de avaliação de efeitos e otimização dos parâmetros se faz importante para a implantação de processos industriais ou uso de novas matérias primas em processos estabelecidos.

Na Figura 10 pode-se notar que a medida que a concentração de sal na solução, e a temperatura aumentam, menor é o rendimento de extração. Sendo que o aumento da temperatura exerce menor influência sobre a resposta.

No entanto, quanto maior o pH e a proporção sólido:solução, maior o rendimento de extração. O pH também exerce um efeito menor que o observado para o aumento da proporção sólido:solução. As mesmas observações foram feitas anteriormente, a partir da Tabela 14.

Todas as observações corroboram com dados da literatura e com as observações feitas no estudo de solubilidade de proteínas do farelo de amendoim. Para a razão sólido:solução, a maior proporção de solução permite maior solubilização das proteínas, conforme constatado por NEVES *et al.* (2006), para o pH do meio, maior solubilidade de proteínas de amendoim foi obtida para soluções alcalinas, com pH acima de 7 igualmente observado no estudo de solubilidade do capítulo II, e por MUNE MUNE *et al.* (2008), SULIMAN *et al.* (2006). A presença de sal em solução na faixa de pH alcalino prejudica a extração das proteínas do farelo de amendoim. Logo, os maiores rendimentos de extração são obtidos em meio alcalino na ausência de sal NaCl (ANDUALEM & GESSESSE, 2013; IVANONA *et al.*, 2013; MA *et al.*, 2010; MUNE MUNE *et al.*, 2008; SULIMAN *et al.*, 2006; WANI *et al.*, 2006).

Os dados experimentais e os resultados da avaliação estatística dos efeitos dos parâmetros sobre o rendimento de extração, apontam que o estudo de otimização dos parâmetros de processo, para maximização do rendimento de extração, deve considerar como variáveis de estudo, em faixas diferentes de operação, a razão sólido:solução e o pH. Os demais parâmetros, temperatura e concentração salina serão fixados em 25° C e 0 mol.dm⁻³, respectivamente.

5.1.2 Farelo de amêndoa de macaúba

A Tabela 16 mostra os efeitos principais e os efeitos de interação dos parâmetros investigados, considerando o Erro Puro no intervalo de confiança de 95% e p-valor de 0,05. Os parâmetros e interações que possuem p-valor inferior a 0,05 são considerados estatisticamente significativos e aparecem na *cor vermelha*.

Tabela 16 - Efeitos dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração obtido com base no planejamento experimental 2⁴ para o farelo de amêndoa.

Fator	Efeitos	Erro Puro	t	p-valor	-0,95	0,95
Mean/Interc.	70,3088	0,160390	438,3608	0,000005	69,6186	70,9989
Curvatr.	-13,9775	0,807279	-17,3143	0,003319	-17,4509	-10,5041
Concentração (X1)	-5,1175	0,320780	-15,9533	0,003906	-6,4977	-3,7373
Razão (X2)	8,6125	0,320780	26,8486	0,001384	7,2323	9,9927
Temperatura (X3)	2,3550	0,320780	7,3415	0,018053	0,9748	3,7352
pH (X4)	17,0525	0,320780	53,1594	0,000354	15,6723	18,4327
X1 * X2	2,2325	0,320780	6,9596	0,020028	0,8523	3,6127
X1 * X3	0,7450	0,320780	2,3225	0,145890	-0,6352	2,1252
X1 * X4	-12,8725	0,320780	-40,1287	0,000620	-14,2527	-11,4923
X2 * X3	0,3250	0,320780	1,0132	0,417620	-1,0552	1,7052
X2 * X4	-2,4125	0,320780	-7,5207	0,017224	-3,7927	-1,0323
X3 * X4	3,3900	0,320780	10,5680	0,008835	2,0098	4,7702
X1*X2*X3	-0,4700	0,320780	-1,4652	0,280490	-1,8502	0,9102
X1*X2*X4	2,0675	0,320780	6,4452	0,023237	0,6873	3,4477
X1*X3*X4	-2,3900	0,320780	-7,4506	0,017542	-3,7702	-1,0098
X2*X3*X4	-0,8800	0,320780	-2,7433	0,111156	-2,2602	0,5002
R² = 0,9995						

Pode-se observar na Tabela 16 que de forma semelhante ao observado para o farelo de amendoim, para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba todos os parâmetros investigados possuem efeito significativo sobre a função resposta, ou seja, sobre o rendimento de extração. Nota-se ainda, que os parâmetros interagem entre si, em alguns casos, aos pares, e em outros, em trio, influenciando de forma diferente a extração de proteínas do farelo de amêndoa.

Avaliando o valor dos efeitos, percebe-se que apenas o parâmetro X1 (concentração de sal na solução) possui influência negativa sobre a função resposta, ou seja, maximiza a resposta quando o nível mínimo é utilizado. De forma contrária influenciam os demais parâmetros X2 (razão sólido:solução), X3 (temperatura) e X4 (pH), ou seja, possuem influência positiva, maximizam a resposta quando os valores dos níveis são máximos. Este comportamento difere do observado para o farelo de amendoim, mostrando que as proteínas, assim como as características da matéria prima influenciam no processo de extração, e, portanto, na otimização dos parâmetros de operação.

O diagrama de Pareto apresentado na Figura 11 mostra de forma clara, quais são os parâmetros com maior efeito sobre a função resposta, rendimento de extração (R %). A partir do diagrama é possível visualizar a magnitude dos efeitos dos parâmetros, representados pelas colunas. Os parâmetros, representados pelas colunas, que ultrapassam a linha vermelha transversal são considerados parâmetros com efeito significativo no intervalo de confiança de 95%.

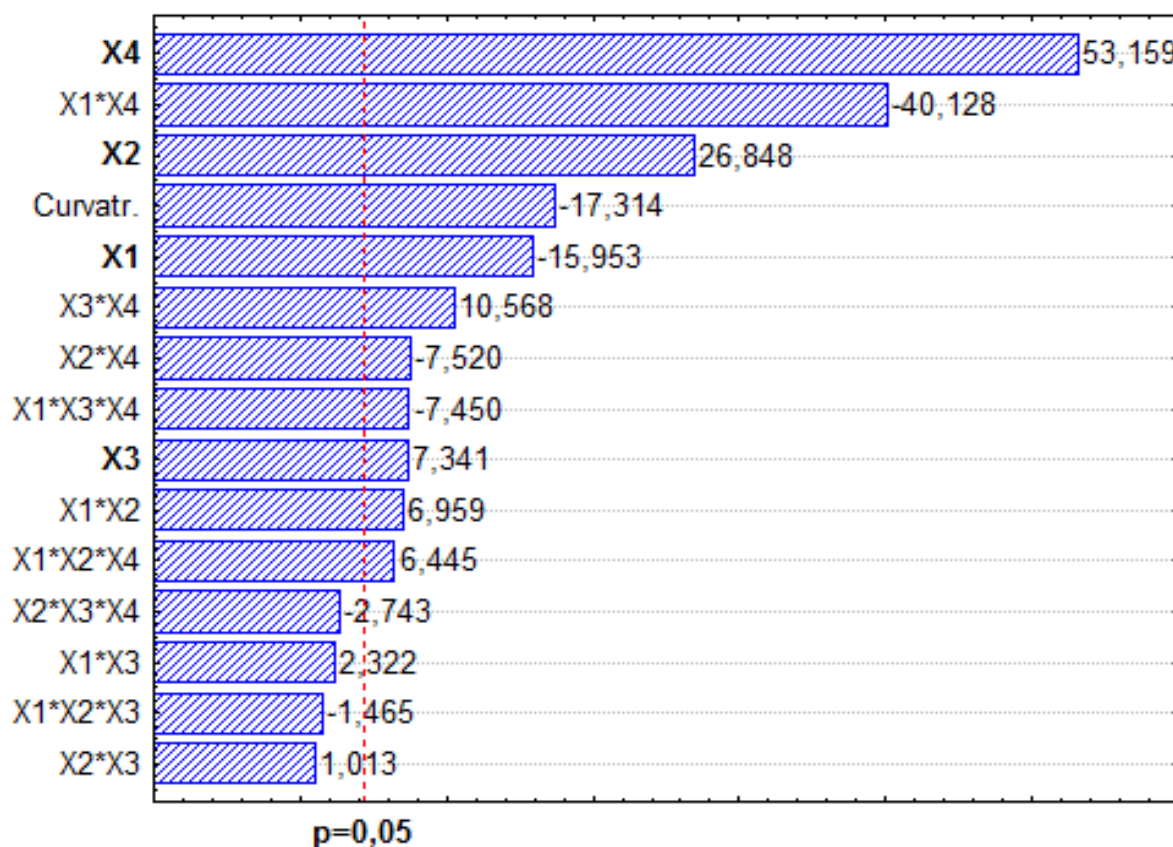


Figura 11 - Diagrama de Pareto para os efeitos dos parâmetros de processo na extração de proteínas do farelo de amêndoa, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.

No diagrama de Pareto apresentado na Figura 11, nota-se que o parâmetro X4 (pH) foi o que mais exerceu influência sobre o rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Este parâmetro exerce influência positiva sobre o rendimento, ou seja, o aumento do pH dentro da faixa investigada gera aumento no rendimento de extração. Os demais parâmetros apresentaram influencia decrescente segundo a sequência, $X2 > X1 > X3$. Conforme também observado para o farelo de amendoim, a temperatura exerceu menor efeito sobre a

extração de proteínas. Isso indica que a extração de proteínas pode ser conduzida a temperatura ambiente, o que gera economia de energia no processo, além de manter a integridade e qualidade das proteínas, uma vez que temperaturas elevadas ou elevado tempo de exposição a certas temperaturas pode desnaturar as proteínas.

Ainda, no diagrama de Pareto da Figura 11 observa-se que as interações entre parâmetros que foram mais significativas são as que ocorrem entre o pH e concentração de sal na solução ($X_1 * X_4$) esta interação que gera efeito negativo sobre o rendimento de extração, ou seja, o efeito da variação de pH para aumento do rendimento de extração é mais significativo quando a concentração de sal é mantida no mínimo investigado. Conforme visto nos estudos de solubilidade do capítulo II, nas faixas de pH alcalino o efeito da presença de sal na solução de extração é negativo. Este comportamento também é confirmado em estudos realizados por NNADOZIE *et al.* (2015) e LORENZO (2008). A interação entre o pH e a temperatura ($X_3 * X_4$) é positiva, mas de menor intensidade que a observada para a interação anteriormente mencionada, sendo que o efeito do aumento de pH no aumento do rendimento de extração é mais pronunciado quando a temperatura é mantida no valor máximo investigado.

A Figura 12 mostra a força dos efeitos quando os parâmetros são variados, na faixa de valores investigados, sobre o rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa.

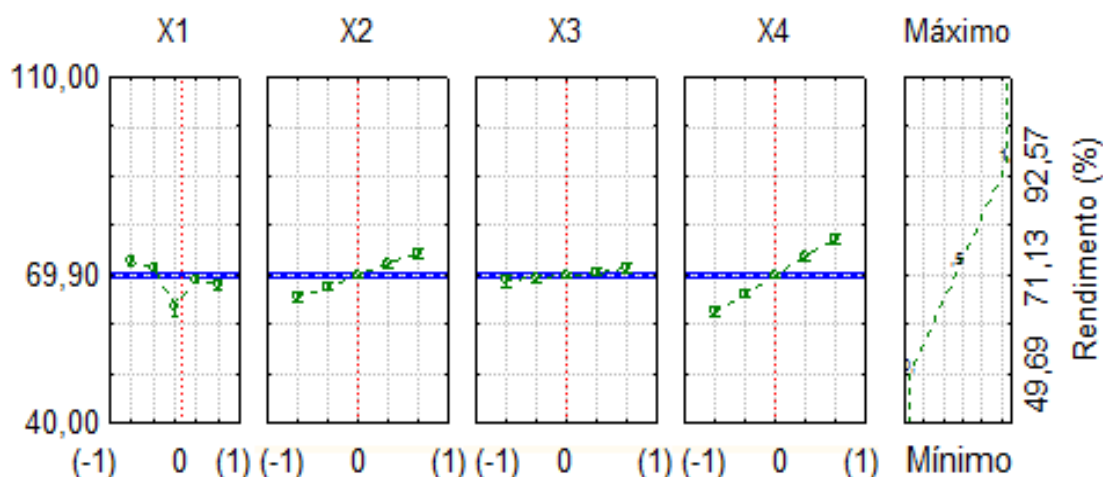


Figura 12 - Intensidade e tendência da influencia da variação dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.

Na Figura 12, nota-se que a partir da variação dos parâmetros de processo o rendimento de extração de proteínas pode atingir valor mínimo de 50% até valor máximo de 92%. Estes valores estão um pouco abaixo dos obtidos para o farelo de amendoim, porém coerentes aos obtidos no estudo da solubilidade.

A variação de temperatura (X3) praticamente não exerce efeito sobre a resposta, dentro da faixa investigada, sendo que os valores de rendimento, obtidos nas diferentes temperaturas, são praticamente os mesmos.

O comportamento da concentração de sal na solução (X1) apresenta um comportamento peculiar, tendendo a diminuir o rendimento conforme maior o teor de sal na solução, no entanto, um pico mínimo é observado para o valor de concentração médio (ponto central) constatação semelhante foi observada nos trabalhos de ANDUALEM & GESSESSE, (2013); MA *et al.* (2010); SULIMAN *et al.* (2006); WANI, *et al.* (2006) sugerindo que existe uma concentração entre a mínima e máxima investigada, onde o efeito do sal na solução é pior para a solubilização das proteínas.

Para o pH, mais significativamente, que para a proporção sólido:solução, quanto maior os níveis investigados, maior o rendimento da extração. Comportamento coerente já que as proteínas do farelo de amêndoa são solúveis

preferencialmente em pH alcalino, além da maior proporção de solução promover maior solubilização das proteínas no meio.

Contudo, nenhum trabalho foi encontrado na literatura que reporta a extração de proteínas do farelo de amêndoa. Entretanto, fica claro que os parâmetros de operação razão sólido:solvente e pH são os que mais influenciam no rendimento de extração. Desta forma, nos estudos de otimização dos parâmetros de processo as variáveis a serem fixadas são a temperatura e concentração de NaCl, fixadas no mínimo.

5.1.3 Farelos da polpa de macaúba

A Tabela 17 abaixo mostra os efeitos principais e os efeitos de interação dos parâmetros investigados, considerando o Erro Puro no intervalo de confiança de 95% ou p-valor de 0,05. Os parâmetros e as interações que possuem p-valor inferior a 0,05 são considerados estatisticamente significativos e aparecem destacados na cor vermelha.

Tabela 17 - Efeitos dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração obtido com base no planejamento experimental 2^4 para o farelo de polpa.

Fator	Efeitos	ErroPuro	t	p-valor	-0,95	0,95
Mean/Interc.	81,0294	0,087548	925,544	0,00001	80,652	-81,4061
Curvatr.	-8,3921	0,440647	19,0449	0,00274	10,288	-6,4961
Concentração (X1)	-14,3638	0,175095	82,0339	0,00014	15,117	13,6104
Razão (X2)	21,1463	0,175095	120,770	0,00006	20,392	21,899
Temperatura (X3)	0,2613	0,175095	1,4920	0,274217	-0,492	1,0146
pH (X4)	4,8613	0,175095	27,7635	0,001295	4,1079	5,6146
X1 *X 2	2,7338	0,175095	15,6129	0,004077	1,9804	3,4871
X1 *X3	0,2787	0,175095	1,5920	0,252383	-0,4746	1,0321
X1 *X4	-2,6013	0,175095	-14,8562	0,004500	-3,3546	-1,8479
X2 *X3	0,5738	0,175095	3,2768	0,081860	-0,1796	1,3271
X2 * X4	-1,9363	0,175095	-11,0583	0,008079	-2,6896	-1,1829
X3 * X4	-1,6813	0,175095	-9,6019	0,010673	-2,4346	-0,9279
X1*X2*X3	-1,1588	0,175095	-6,6178	0,022080	-1,9121	-0,4054
X1*X2*X4	3,0812	0,175095	17,5976	0,003214	2,3279	3,8346
X1*X3*X4	4,2563	0,175095	24,3082	0,001688	3,5029	5,0096
X2*X3*X4	0,5262	0,175095	3,0055	0,095165	-0,2271	1,2796
R²= 0,9874						

Pode-se observar na Tabela 17 que de forma diferente ao constatado para os farelos de amendoim e amêndoa, o único parâmetro que não exerceu influencia significativa no rendimento de extração de proteínas foi a temperatura (X3). Contudo, para os demais farelos, concluiu-se que a temperatura deve ser fixada no valor mínimo investigado por exercer pouca influencia no aumento do rendimento. Nota-se ainda, que os parâmetros interagem entre si, em alguns casos, aos pares, e em outros, em trio, influenciando de forma diferente a extração de proteínas do farelo da polpa.

Avaliando o valor dos efeitos, percebe-se que apenas o parâmetro X1 (concentração de sal na solução) possui influência negativa sobre a função resposta, ou seja, maximiza a resposta quando o nível mínimo é utilizado, assim como observado para o farelo de amêndoa e amendoim. De forma contrária influenciam os demais parâmetros X2 (razão sólido:solução) e X4 (pH), ou seja, possuem influência positiva e maximizam a resposta quando os valores dos níveis são máximos.

Os diferentes farelos apresentaram comportamento diferente com relação ao efeito dos parâmetros sobre a resposta, no entanto, de modo geral, a influência dos parâmetros parece mostrar uma mesma tendência sobre a função resposta.

O diagrama de Pareto apresentado na Figura 13 mostra de forma clara, quais são os parâmetros com maior efeito sobre a função resposta, rendimento de extração (S%). A partir do diagrama é possível visualizar a magnitude dos efeitos dos parâmetros, representados pelas colunas. Os parâmetros, representados pelas colunas, que ultrapassam a linha vermelha transversal são considerados parâmetros com efeito significativo no intervalo de confiança de 95%.

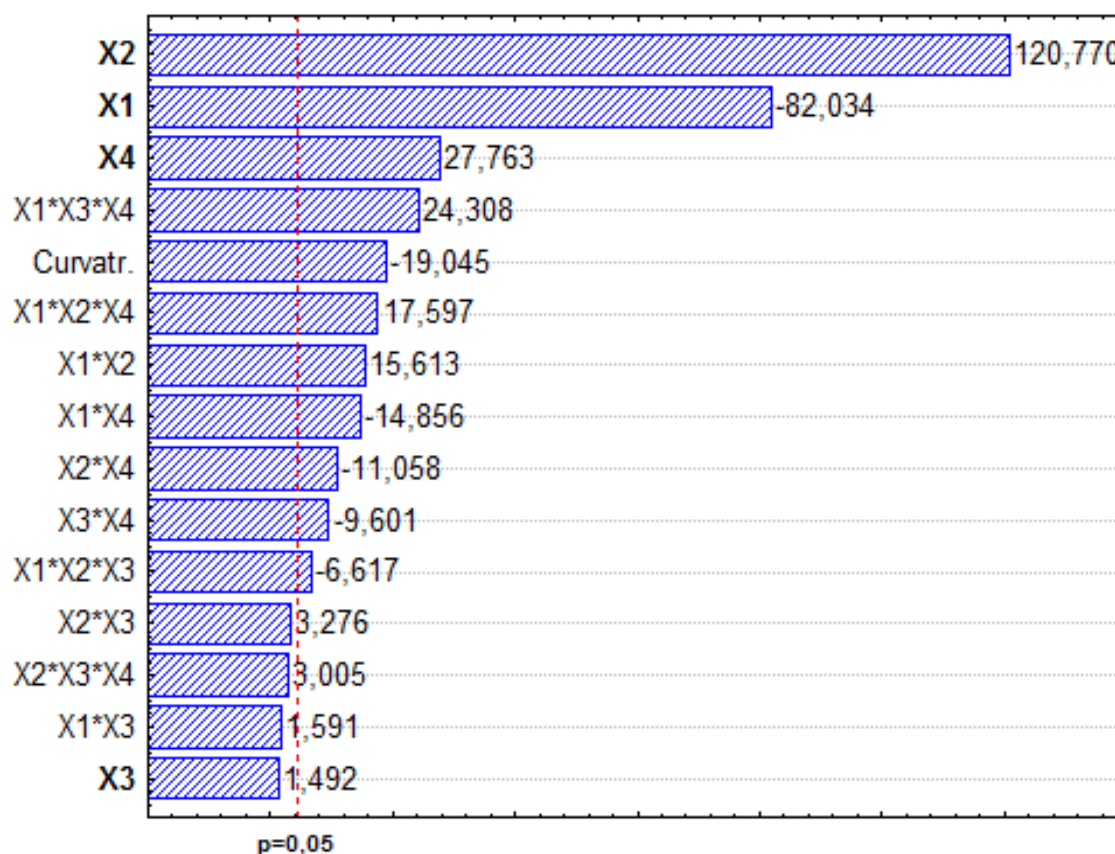


Figura 13 - Diagrama de Pareto para os efeitos dos parâmetros de processo na extração de proteínas do farelo de polpa, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.

Na Figura 13, o diagrama de Pareto mostra que para a extração de proteínas do farelo de polpa, o parâmetro que possui maior efeito sobre a resposta é a proporção sólido:solução (X2), seguido da concentração de sal na solução (X1) e do pH (X4). Um comportamento semelhante foi observado para o farelo de amendoim, porém, para o farelo de amêndoa, nota-se que o pH foi o parâmetro mais relevante.

O fato do comportamento da curva de solubilidade para as proteínas do farelo de polpa apresentar alta solubilidade (acima de 50%) para ampla faixa de pH pode estar refletindo no peso maior do efeito do parâmetro razão sólido:solução. Além disso, como a composição do farelo de polpa possui mais carboidratos e fibras solúveis que proteínas, a extração destes componentes, juntamente com a proteína, pode exercer efeito menos significativo quando maiores proporções sólido:solução são empregados.

Para todos os casos, o parâmetro proporção sólido:solução (X2), apareceu como um dos mais importantes à influenciar a extração de proteínas dos farelos, sendo este comportamento também reportado em trabalhos da literatura (FIRATLIGIL-DURMUS, 2010; NEVES *et al.*, 2006; QUANHONG & CAIII, 2005) para diferentes matérias primas, sendo justificado que o aumento do volume de solução, considerando constante a quantidade de sólido, aumenta o gradiente de concentração entre o sólido e a solução de extração, resultando em maior solubilização das proteínas.

No diagrama de Pareto da Figura 13 ainda é observado, que algumas interações de terceira ordem como, por exemplo, $X1*X3*X4$ e $X1*X2*X4$ foram bastante significativas na influência sobre a extração das proteínas do farelo de polpa. A explicação para este fenômeno é que a soluções concentradas, a uma temperatura elevada e maior pH contribuem para aumento do rendimento do processo, igualmente soluções com maior concentração, maior razão sólido solução e maior pH, também contribuem para aumento do rendimento. Isso não foi observado para os demais farelos e mostra o caráter complexo dos fenômenos que afetam a extração das proteínas do farelo da polpa de macaúba.

As interações de segunda ordem como $X1*X2$ e $X1*X4$ contribuem para aumento e redução do rendimento respetivamente, de igual forma com outras matérias primas. A curvatura se mostrou significativa nas três amostras e com influência negativa sobre o rendimento, por isso os efeitos de interação devem ser considerados como fundamentais no processo. No geral, embora a influência dos efeitos principais não possa ser considerada isoladamente, mas em conjunto com as interações, entretanto em cada amostra pode-se afirmar estatisticamente que ao nível de confiança de 95% a magnitude dos efeitos lineares ou principais são mais significativa em relação aos efeitos de interação de segunda e terceira ordem.

A Figura 14 mostra a força dos efeitos dos parâmetros, na faixa de valores investigados, sobre o rendimento de extração de proteínas do farelo de polpa.

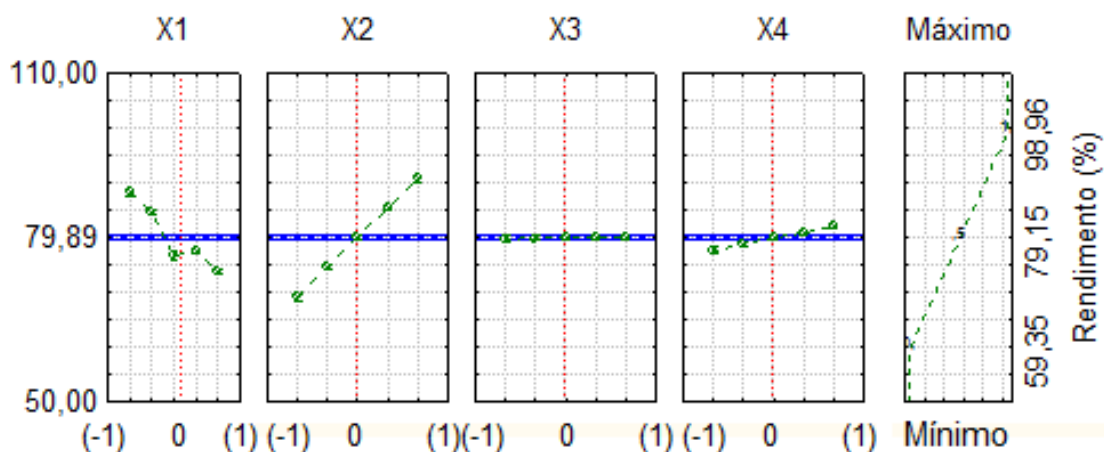


Figura 14 - Intensidade e tendência da influencia da variação dos parâmetros de processo sobre o rendimento de extração, onde X1 - Concentração de sal; X2 - Razão sólido:solução; X3 - Temperatura, X4 - pH.

Na Figura 14 nota-se que a variação dos parâmetros de processo resulta em rendimento de extração de proteínas entre 60% e 99% para o farelo de polpa. Faixa semelhante foi obtida para a extração de proteínas do amendoim, contudo para a extração a partir da amêndoa, rendimento menor foi observado.

Observa-se com clareza, o efeito fortemente positivo da variação da razão sólido:solução (X2) no rendimento de extração, apesar do pH (X4) apresentar o mesmo efeito, sua variação contribui com menor intensidade para o aumento do rendimento de extração.

A concentração de sal na solução (X1), por sua vez, apresenta de forma bem significativa seu efeito negativo sobre o rendimento de extração de proteínas do farelo de polpa. É interessante notar que apesar da influencia dos parâmetros demonstrarem uma tendência semelhante sobre o rendimento de extração para os diferentes farelos, a intensidade é diferente para cada caso, devido às particularidades associadas a cada tipo de matéria prima.

De um modo geral, para todos os farelos investigados os parâmetros que mais afetaram estatisticamente, ao nível de 95% de confiança, na extração de proteínas foram: a razão sólido:solução e o pH. A temperatura e a concentração de sal na solução, para todos os casos, exerceram influencia pouco significativa ou negativa sobre o rendimento de extração, logo ambos os parâmetros podem ser

fixados na condição mínima estudada, ou seja, temperatura ambiente e ausência de sal na solução de extração. Isso sugere que a extração de proteínas dos farelos é favorável mesmo em temperatura ambiente e empregando soluções aquosas em pH alcalino, o que industrialmente resulta em processos mais simples e econômicos.

Portanto, assim como sugerido para os demais farelos, no estudo de otimização dos parâmetros de processo para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba apenas os parâmetros pH e razão sólido:solução serão considerados variáveis devido a sua maior influência e mantendo-se fixo os parâmetros temperatura e concentração salina devido a menor influência no rendimento.

Desta forma, para todos os farelos foram realizados ensaios considerando um planejamento experimental completo 2^2 , com pontos centrais e axiais, a fim de se obter um modelo empírico que melhor representa a influência dos parâmetros investigados na maximização do rendimento de extração. Os resultados são apresentados e discutidos a seguir.

5.2. Ensaios de otimização dos parâmetros de processo e análise dos resultados pela metodologia de superfície de resposta

Para cada tipo de farelo foram realizados ensaios de extração de proteínas, seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente, no entanto, a temperatura de extração foi mantida constante em 25 °C e a solução de extração foi a água destilada.

Os parâmetros investigados no planejamento experimental 2^2 , com pontos centrais e axiais foram, pH da solução e proporção sólido:solução. O pH da solução de extração foi medido inicialmente e ao final de 1 hora de extração, a variação máxima no valor foi de 0,20, sendo continuamente monitorado e ajustado, se necessário, ao longo do experimento.

A função resposta analisada foi o rendimento de extração de proteínas. Um total de 13 ensaios foram conduzidos, com 5 pontos centrais e 4 axiais. A metodologia de análise de resultados por superfície de resposta foi utilizada e teve

como objetivo descrever um modelo empírico que representa a influência dos parâmetros de processo na função resposta (rendimento de extração de proteínas).

A Tabela 18 apresenta o planejamento experimental 2^2 composto central com as variáveis codificadas e reais utilizadas nos experimentos de otimização dos parâmetros.

Tabela 18- Planejamento composto central 2^2 com as variáveis reais e codificadas.

Experimentos	Variáveis Originais		Variáveis Codificadas	
	Razão (m/v)	pH	X2	X4
1	1:20	8	-1	-1
2	1:20	11	-1	1
3	1:80	8	1	-1
4	1:80	11	1	1
5	1:7,57	9,5	-1,41	0
6	1:92,43	9,5	1,41	0
7	1:50	7,38	0	-1,41
8	1:50	11,62	0	1,41
9	1:50	9,5	0	0
10	1:50	9,5	0	0
11	1:50	9,5	0	0
12	1:50	9,5	0	0
13	1:50	9,5	0	0

5.2.1 Farelo de Amendoim

A Tabela 19 apresenta os resultados de rendimento de extração de proteínas para os experimentos do planejamento experimental composto central para o farelo de amendoim.

Tabela 19 – Rendimento de extração de proteínas a partir do farelo de amendoim.

Experimentos	Variáveis Codificadas		Rendimento (R1%)	
	X2	X4	experimental	predito
10	-1	-1	86,45±0,82	85,92
11	-1	1	91,71±0,49	91,13
7	1	-1	85,37±1,01	85,89
3	1	1	94,08±1,53	94,55
1	-1,41	0	85,24±0,76	86,03
6	1,41	0	89,13±1,30	88,42
9	0	-1,41	86,76±0,14	86,73
12	0	1,41	96,44±1,08	96,51
2	0	0	98,87±0,60	98,15
8	0	0	97,90±0,95	98,15
4	0	0	98,11±1,35	98,15
13	0	0	97,95±2,22	98,15
5	0	0	97,89±0,95	98,15

Em uma avaliação preliminar dos resultados da Tabela 19 pode-se constatar que mesmo nas piores condições de processo o rendimento de extração foi de pelo menos 85%. Rendimento máximo de até 98% foi obtido quando os ensaios foram conduzidos nas condições do ponto central (razão 1:50 e pH 9,5).

Nota-se ainda, que os valores preditos pelo modelo empírico que traduz o rendimento de extração em função dos parâmetros investigados, obtido a partir da análise estatística dos dados experimentais, são muito próximos dos valores experimentais, o que sugere que o modelo obtido descreve bem o comportamento dos dados experimentais, dentro da faixa investigada para os parâmetros.

O modelo obtido a partir dos resultados dos experimentos do planejamento experimental foi validado pela ANOVA. Os termos do modelo foram examinados quanto sua significância através do p-valor. Neste tipo de teste, os coeficientes são significativos se os valores absolutos de p-valor são menores que o nível de significância considerado (α), que neste estudo foi de 0,05.

Os resultados da ANOVA, para o planejamento experimental da extração de proteínas do farelo de amendoim é apresentado na Tabela 20.

Tabela 20 - ANOVA aplicada ao planejamento composto central para o estudo de extração de proteínas do farelo de amendoim

Fator	SQT	GL	MQ	Fcal	p-valor
Regressão/Modelo	359,9	5	71,979	171,988	0,0000003
X2(L)	5,7412	1	5,741	32,663	0,004637
X2(Q)	208,6975	1	208,697	1187,333	0,000004
X4 (L)	95,9252	1	95,925	545,743	0,000020
X4(Q)	74,8296	1	74,829	425,725	0,000033
X2*X4	2,9756	1	2,975	16,929	0,014678
Resíduos	2,9296	7	71,979		
Falta de Ajuste	2,2095	3	0,7365	4,190	0,100023
Erro Puro	0,7031	4	0,1758		
Total	362,52	12			

F_{tab} (5,7) = 3,972

Na Tabela 20, SQT corresponde à soma quadrática, GL aos graus de liberdade, MQ à soma da média quadrática, Fcal é o parâmetro de Fischer calculado e p-valor o valor da probabilidade de significância.

Pelo teste da ANOVA, o modelo que descreve o rendimento de extração de proteínas em função dos parâmetros de processo só é válido se o valor de F calculado (Fcal) for maior que o valor de F tabelado (F_{Tab}). O valor de F_{tab} para o teste F foi obtido a partir da Tabela de distribuição F apresentada no Anexo (B) para o nível de significância de 0,05 e considerando os graus de liberdade para regressão e o resíduo.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 20, o modelo se mostra válido, pois Fcal do modelo (171,988) é muito maior que F_{tab} (3,972). Além disso, o coeficiente de regressão do modelo (R²), foi de 0,9919, o que demonstra que o modelo é capaz de representar 99,19% dos dados experimentais.

Quanto ao teste de falta de ajuste, que verifica se a falta de ajuste do modelo esta relacionada aos erros aleatórios experimentais ou ao modelo mal definido, o p-valor da falta de ajuste do modelo mostra-se maior que 0,05, o que indica que não há falta de ajuste no modelo obtido, portanto, o modelo descreve bem os dados experimentais, sendo útil inclusive para prever valores de rendimento, para qualquer valor dos parâmetros, dentro das faixas investigadas, conforme mostra a Tabela 19.

O modelo codificado obtido do planejamento experimental e validado pela ANOVA é apresentado na equação 3.2.

$$R1 = 98,15 + 0,85X_2 - 5,48X_2^2 + 3,46X_4 - 3,28X_4^2 + 0,86X_2X_4 \quad \text{Equação 3.2}$$

Onde na equação R1 é o rendimento de extração de proteínas em % e X2 e X4 correspondem aos parâmetros de processo codificados, razão sólido:solução e pH, respectivamente.

Nota-se na equação 3.2 que os coeficientes lineares dos parâmetros mostram uma influência positiva no rendimento de extração, tal como observado nos experimentos de avaliação de efeito dos parâmetros. É possível verificar ainda, que o pH exerce maior influência sobre o rendimento, com um coeficiente cerca de 4 vezes maior que o definido para o parâmetro razão sólido:solução.

A partir dos valores experimentais de rendimento de extração e os valores preditos pelo modelo obtido do planejamento experimental representado pela equação 3.2, foi possível obter o gráfico representado na Figura 15 que demonstra a acuracidade do modelo em predizer e representar o comportamento dos dados experimentais, confirmando desta forma que não há falta de ajuste para o modelo.

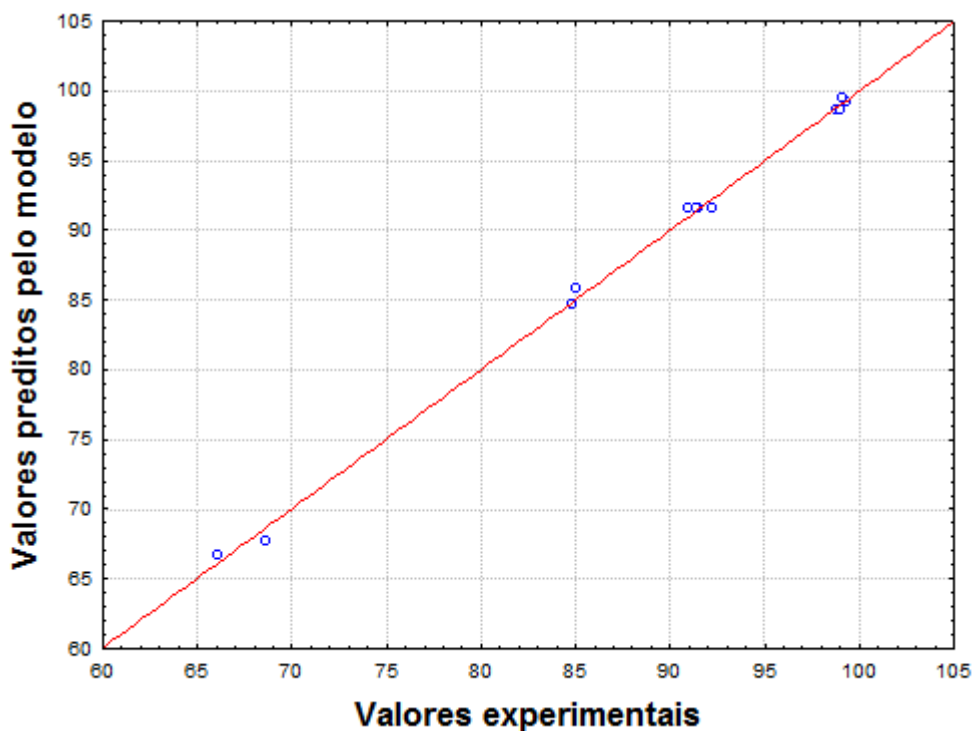


Figura 15- Relação entre os dados de rendimento de extração experimental e preditos pelo modelo

Na Figura 15 observa-se uma boa relação entre os valores de rendimento preditos e os experimentais, ficando os valores experimentais em torno da reta vermelha oblíqua que descreve os valores preditos, mostrando assim, uma boa aproximação dos valores reais e experimentais quando o modelo é utilizado para predição do comportamento real. Desta forma, confirma-se a boa representatividade do modelo quadrático obtido pelo planejamento experimental para descrever o rendimento de extração de proteínas do farelo de amendoim.

Conforme havia sido observado anteriormente na Tabela 19, os valores dos parâmetros de processo X2 e X4 associados ao no ponto central (0) maximizam o rendimento de extração, este comportamento pode ser melhor observado através da superfície de resposta obtida a partir da equação do modelo de rendimento de extração (equação 3.2), e que descreve o comportamento do rendimento (R1) em função das variação dos parâmetros X2 e X4, dentro dos limites investigados.

Na Figura 16 é apresentada a superfície de resposta do rendimento (R) em relação aos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH, onde é possível verificar a região ótima para os parâmetros, quando o rendimento é máximo.

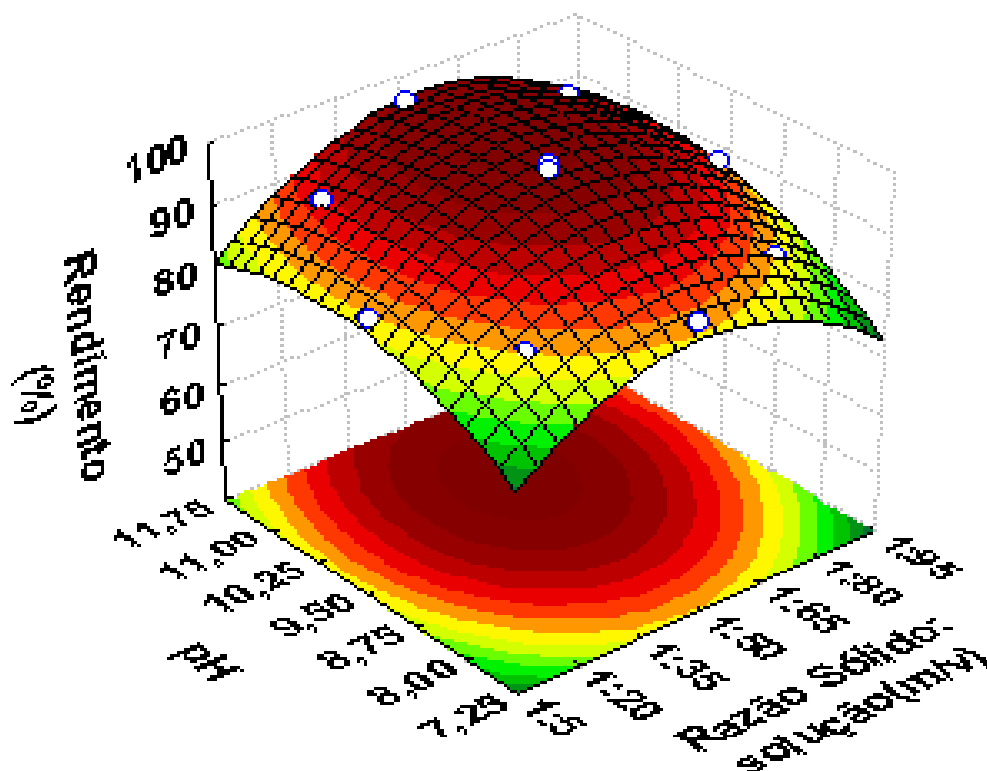


Figura 16- Superfície de resposta para o rendimento de extração de proteínas do farelo de amendoim (R1) em função dos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH.

Na Figura 16 é possível identificar o ponto ótimo para os parâmetros de processo, onde a resposta extração de proteínas é máxima. A partir das derivadas parciais do modelo ($\frac{\partial R_1}{\partial x_2} = 0$ e $\frac{\partial R_1}{\partial x_4} = 0$) com relação a cada parâmetro do processo, é possível obter os valores ótimos do processo, onde o máximo rendimento de extração de proteínas é obtido.

Assim, resolvendo o sistema de equações para X2 e X4, representados pelas equações 3.2.a e 3.2.b:

$$0,85 - 10,96X_2 + 0,86X_4 = 0 \quad \text{Equação 3.2 a}$$

$$3,46 + 0,86X_2 - 6,56X_4 = 0 \quad \text{Equação 3.2 b}$$

Obtêm-se os seguintes valores ótimos codificados para os parâmetros de processo; como sendo, $X_2 = 0,12$ e $X_4 = 0,54$, ou em valores reais dos parâmetros, razão sólido:solução de 1:53,6 e pH de 10,3 onde o rendimento máximo foi de 99,14 %, pelo modelo.

Ainda na Figura 20 a partir das linhas de contorno na região ótima, é possível não só identificar o ponto de máximo de rendimento, mas a faixa de operação dos parâmetros de processo onde o ótimo de rendimento é mantido, trazendo flexibilidade ao processo. Nota-se que na faixa de pH entre 9,25 e 11,00 e razão sólido:solução entre 1:40 e 1:65, o rendimento de extração mantém-se acima de 98%, considerado satisfatório para processos industriais.

Resultados similares foram obtidos por KAUR *et al.* (2008); NEVES *et al.* (2006); QUANHONG & CAILI, (2005); SAXENA *et al.* (2011), WANI *et al.* (2006) para o rendimento ótimo na extração de proteínas vegetais de diferentes fontes de leguminosas.

De um modo geral, pode-se dizer que o processo de extração de proteínas a partir do farelo de amendoim é viável empregando-se o processo de extração química em meio alcalino.

5.2.2 Farelo da Amêndoa de Macaúba

A Tabela 21 apresenta os resultados de rendimento de extração de proteínas dos farelos de amêndoa de macaúba para os experimentos do planejamento experimental composto central.

Tabela 21- Rendimento de extração de proteínas a partir do farelo de amêndoa de macaúba

Experimentos	Variáveis codificadas		Rendimento (R2 %)	
	X2	X4	Experimental	Predito
1	-1	-1	39,31±0,39	39,03
2	-1	1	65,57±0,38	65,06
3	1	-1	52,89±1,07	53,49
4	1	1	59,36±0,76	59,74
5	-1,41	0	52,90±0,06	53,48
6	1,41	0	60,61±0,76	59,93
7	0	-1,41	40,94±1,13	40,73
8	0	1,41	63,36±1,01	63,48
9	0	0	66,33±0,32	66,73
10	0	0	66,10±0,39	66,73
11	0	0	66,46±0,26	66,73
12	0	0	67,76±0,15	66,73
13	0	0	67,01±0,54	66,73

Em uma avaliação preliminar dos resultados da Tabela 21 pode-se constatar que a variação dos parâmetros investigados, razão sólido:solução (X2) e pH (X4) influencia significativamente o rendimento de extração de proteínas a partir do farelo de amêndoa de macaúba. Na pior condição experimental o rendimento foi quase 2 vezes menor que o obtido na melhor condição. O máximo rendimento obtido fica em torno de 67%, e ocorre em condições de processo próximas ao ponto central (razão 1:50 e pH 9,5). É importante mencionar que o rendimento foi inferior ao obtido para a extração de proteínas dos farelos de amendoim.

Os valores preditos pelo modelo empírico que traduz o rendimento de extração em função dos parâmetros investigados, obtido a partir da análise estatística dos dados experimentais, são muito próximos dos valores experimentais, o que sugere que o modelo obtido descreve bem o comportamento dos dados experimentais, dentro da faixa investigada para os parâmetros.

O modelo obtido a partir dos resultados dos experimentos do planejamento experimental foi validado pela ANOVA. Os termos do modelo foram examinados quanto sua significância através do p-valor. Neste tipo de teste, os coeficientes são

significativos se os valores absolutos de p-valor são menores que o nível de significância considerado (α), que neste estudo foi de 0,05.

Os resultados da ANOVA, para o planejamento experimental da extração de proteínas do farelo de amendoim é apresentado na Tabela 22.

Tabela 22- ANOVA aplicada ao planejamento composto central para o estudo de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba.

Fator	SQT	GL	MQ	Fcal	p-valor
Regressão/Modelo	1150,5	5	230,1	461,533	0,000000
X2 (L)	41,695	1	41,6948	94,275	0,000630
X2(Q)	176,164	1	176,1638	398,317	0,000037
(X4 L)	519,400	1	519,3995	1174,395	0,000004
X4(Q)	373,996	1	373,9958	845,628	0,000008
X2* X4	97,812	1	97,8121	221,159	0,000119
Resíduos	3,4899	7	0,4986		
Falta de Ajuste	1,761	3	0,5869	1,327	0,382853
Erro Puro	1,769	4	0,4423		
Total	1153,999	12			

F_{tab} (5,7) = 3,972

Na Tabela 22, SQT corresponde à soma quadrática, GL aos graus de liberdade, MQ à soma da média quadrática, Fcal é o parâmetro de Fischer calculado e p-valor o valor da probabilidade de significância.

Assim como obtido para a extração de proteínas do farelo de amendoim, para a extração de proteínas do farelo de amêndoa, todos os coeficientes do modelo, lineares e não lineares, além da interação, foram significativos, ao nível de confiança de 95%, para os parâmetros investigados.

Pelo teste da ANOVA, o modelo que descreve o rendimento de extração de proteínas em função dos parâmetros de processo só é válido se o valor de F calculado (Fcal) for maior que o valor de F tabelado (F_{Tab}). O valor de F_{tab} para o teste F foi obtido a partir da Tabela de distribuição F apresentada no anexo (B) para o nível de significância de 0,05 e considerando os graus de liberdade para regressão e o resíduo.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 22, o modelo se mostra válido, pois Fcal do modelo (461,533) é muito maior que F_{tab} (3,972). Além disso, o

coeficiente de regressão do modelo (R^2), foi de 0,9969, o que demonstra que o modelo é capaz de representar 99,69% dos dados experimentais.

Quanto ao teste de falta de ajuste, que verifica se a falta de ajuste do modelo esta relacionada aos erros aleatórios experimentais ou ao modelo mal definido, o p-valor da falta de ajuste do modelo mostra-se maior que 0,05, o que indica que não há falta de ajuste no modelo obtido, portanto, o modelo descreve bem os dados experimentais, sendo útil inclusive para prever valores de rendimento, para qualquer valor dos parâmetros, dentro das faixas investigadas, conforme mostra a Tabela 21.

O modelo codificado que descreve o rendimento de extração de proteínas (R_2) do farelo de amêndoa da macaúba, em função dos parâmetros de processo pH (X_4) e razão sólido:solução (X_2), e validado pela ANOVA, na faixa de valores investigados, é descrito pela equação (3.3) a seguir:

$$R_2 = 66,73 + 2,28X_2 - 5,03X_2^2 + 8,06X_4 - 7,33X_4^2 + 4,94X_2X_4 \quad \text{Equação 3.3}$$

Da equação 3.3 é possível notar, mais uma vez, que os coeficientes lineares do modelo, pH (X_4) e razão sólido:solução (X_2), exercem influencia positiva sobre o rendimento de extração de proteínas, sendo a influência do pH cerca de 3,5 vezes maior que a da razão sólido: solução. Resultado semelhante foi obtido para a extração de proteínas do amendoim, sendo confirmada a observação feita nos estudos de solubilidade, e a importância do pH da solução de extração para maior solubilização e extração das proteínas dos farelos. Deste modo, a extração química em meio alcalino é um processo viável para a extração de proteínas dos farelos de amêndoa e amendoim.

A partir dos valores experimentais de rendimento de extração e os valores preditos pelo modelo obtido do planejamento experimental representado pela equação 3.3, foi possível obter o gráfico representado na Figura 17 que demonstra a acuracidade do modelo em predizer e representar o comportamento dos dados experimentais, confirmando desta forma que não há falta de ajuste para o modelo.

A Figura 17 mostra a relação entre os valores de rendimento de extração preditos pelo modelo e os valores de rendimento obtidos experimentalmente.

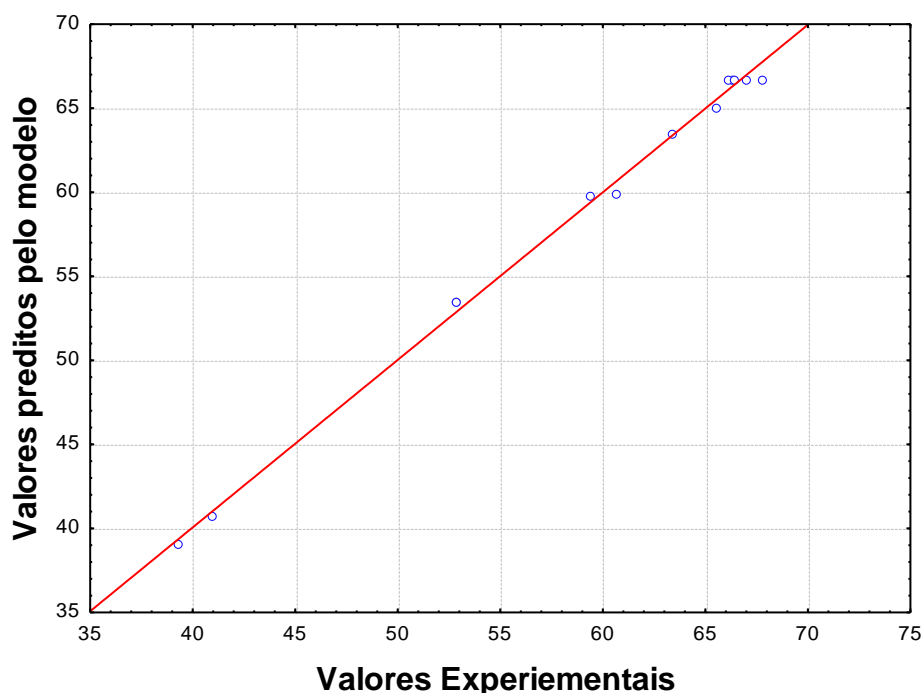


Figura 17- Relação entre os dados de rendimento de extração experimental e preditos pelo modelo

Na Figura 17 se observa uma boa relação entre os valores de rendimento preditos e os experimentais, ficando os valores experimentais em torno da reta que descreve os valores preditos, mostrando assim, uma boa aproximação dos valores reais, quando o modelo é utilizado para predição do comportamento de extração. Desta forma, confirma-se a boa representatividade do modelo quadrático obtido pelo planejamento experimental para descrever o rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa.

Conforme havia sido observado anteriormente na Tabela 21, os valores dos parâmetros de processo X2 e X4 associados ao ponto central (0) maximizam o rendimento de extração, este comportamento pode ser melhor observado através da superfície de resposta obtida a partir da equação do modelo de rendimento de extração (equação 3.3), e que descreve o comportamento do rendimento (R2) em função das variações dos parâmetros X2 e X4, dentro dos limites investigados.

Na Figura 18 é apresentada a superfície de resposta do rendimento (R2) em relação aos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH, onde é possível verificar a região ótima para os parâmetros, quando o rendimento é máximo.

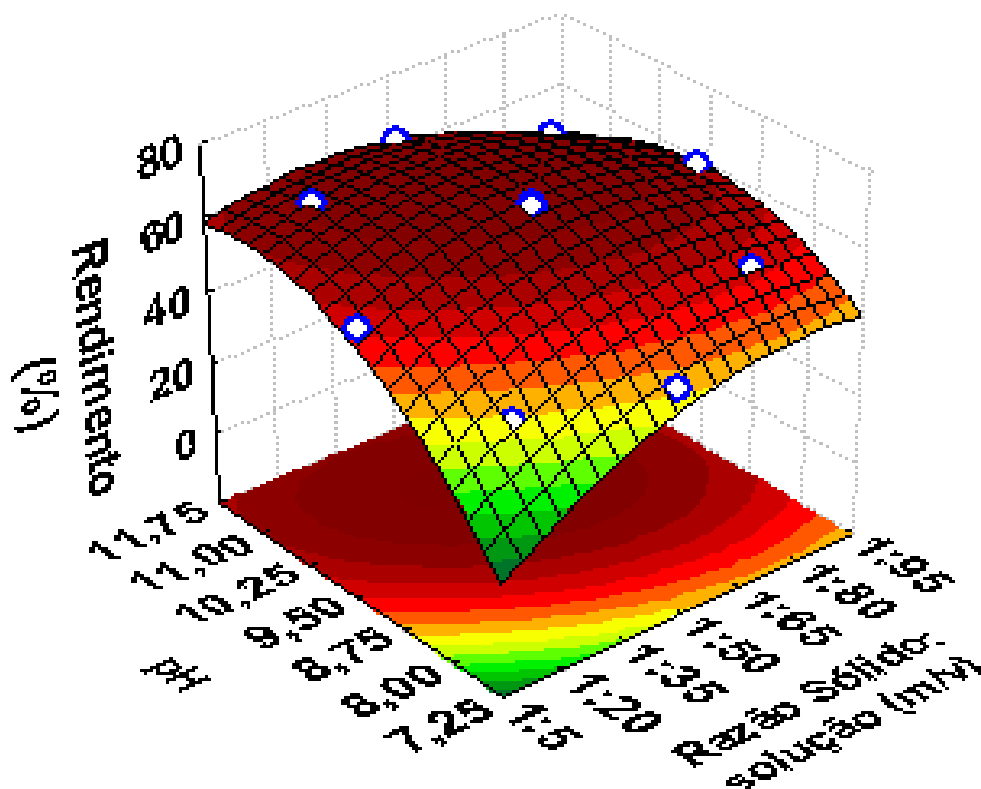


Figura 18 - Superfície de resposta para o rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba em função dos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH.

Na Figura 18 é possível identificar o ponto ótimo para os parâmetros de processo, onde a resposta extração de proteínas é máxima. A partir das derivadas parciais do modelo ($\frac{\partial R_2}{\partial X_2} = 0$ e $\frac{\partial R_2}{\partial X_4} = 0$) com relação a cada parâmetro do processo, é possível obter os valores ótimos do processo, onde o máximo rendimento de extração de proteínas é obtido.

Assim, resolvendo o sistema de equações para X2 e X4, representados pelas equações 3.3.a e 3.3.b:

$$2,28 - 10,08X_2 - 4,95X_2X_4 = 0 \quad \text{Equação 3.3 a}$$

$$8,06 - 4,95X_2 - 14,66X_4 = 0 \quad \text{Equação 3.3 b}$$

O ponto ótimo dos parâmetros codificados foi identificado como sendo, $X_2 = -0,05$ e $X_4 = 0,56$ ou em valores reais dos parâmetros, razão sólido:solução = 1:48,5 e pH = 10,3 onde o rendimento máximo foi de 64,7%, segundo o modelo.

Nota-se que o valor máximo de rendimento de extração foi baixo, se comparado com o valor obtido para a extração de proteínas de amendoim, no entanto, está cima de 50%.

Nota-se na Figura 18 que para a extração de proteínas do farelo de amêndoa o ideal seria utilizar valores de pH maiores, a variabilidade na composição das proteínas pode ter influenciado no rendimento, considerando a faixa de pH investigada. Além disso, no estudo de avaliação de efeitos a temperatura apesar de exercer um efeito sutil no aumento de rendimento, esta pode auxiliar para o aumento da solubilidade das proteínas, faixas maiores de temperatura e pH podem ser investigadas.

Ainda na Figura 18 a partir das linhas de contorno na região ótima, é possível não só identificar o ponto de máximo de rendimento, mas a faixa de operação dos parâmetros de processo onde o ótimo de rendimento é mantido, trazendo flexibilidade ao processo. Nota-se que em pH acima de 10,25, para ampla faixa de razão sólido:solução entre 1:20 e 1:65, o rendimento de extração mantém-se em torno de 65%, considerado satisfatório para processos industriais.

5.2.3 Farelo da polpa de macaúba

A Tabela 23 apresenta os resultados de rendimento de extração de proteínas dos farelos de polpa de macaúba para os experimentos do planejamento experimental composto central.

Tabela 23- Rendimento de extração de proteínas a partir do farelo de polpa de macaúba

Experimentos	Variáveis codificadas		Rendimento (R3 %)	
	X2	X4	Experimental	Preditos
10	-1	-1	66,04±0,19	66,74
11	-1	1	85,05±1,22	85,87
7	1	-1	98,81±0,94	98,56
3	1	1	99,32±0,38	99,18
1	-1,41	0	68,63±0,39	67,67
6	1,41	0	99,08±0,91	99,49
9	0	-1,41	84,88±0,50	84,68
12	0	1,41	98,97±0,91	98,60
2	0	0	91,40±0,89	91,50
8	0	0	91,01±0,31	91,50
4	0	0	91,52±0,81	91,50
13	0	0	92,21±1,03	91,50
5	0	0	91,41±0,91	91,50

R²=0,9975

Em uma avaliação preliminar dos resultados da Tabela 23 pode-se constatar que a variação dos parâmetros investigados, razão sólido:solução (X2) e pH (X4) influenciam significativamente o rendimento de extração de proteínas (R3) a partir do farelo de polpa de macaúba. Na pior condição experimental o rendimento foi 1,5 vezes menor que o obtido na melhor condição. O máximo rendimento obtido fica em torno de 99%, e ocorre em condições de processo onde os parâmetros tendem a valores acima do ponto central, ou seja, valores positivos. É importante mencionar que o rendimento de extração das proteínas do farelo de polpa foi semelhante ao obtido para o farelo de amendoim, sendo o menor rendimento obtido para a extração de proteínas da amêndoa de macaúba.

Os valores preditos pelo modelo empírico que traduz o rendimento de extração em função dos parâmetros investigados, obtido a partir da análise estatística dos dados experimentais, são muito próximos dos valores experimentais, o que sugere que o modelo obtido descreve bem o comportamento dos dados experimentais, dentro da faixa investigada para os parâmetros.

O modelo obtido a partir dos resultados dos experimentos do planejamento experimental foi validado pela ANOVA. Os termos do modelo foram examinados

quanto sua significância através do p-valor. Neste tipo de teste, os coeficientes são significativos se os valores absolutos de p-valor são menores que o nível de significância considerado (α), que neste estudo foi de 0,05.

Os resultados da ANOVA, para o planejamento experimental da extração de proteínas do farelo de amendoim é apresentado na Tabela 24.

Tabela 24- ANOVA aplicada ao planejamento composto central para o estudo de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba.

Fator	SQT	GL	SMQ	Fcal	p-valor
Regressão/Modelo	1407,4	5	281,47	606,192	0,000000
X2 (L)	1015,452	1	1015,452	5329,615	0,000000
X2 (Q)	109,255	1	109,255	573,425	0,000018
X4(L)	194,501	1	194,501	1020,842	0,000006
X2 *X4	85,562	1	85,562	449,076	0,000029
Resíduos	3,2503	7	0,4643		
Falta de Ajuste	2,4882	3	0,889	4,664	0,09464
Erro Puro	0,762	4	0,191		
Total	1410,65	12			

$$F_{tab}(5,7) = 3,972$$

Na Tabela 24, SQT corresponde à soma quadrática, GL aos graus de liberdade, MQ à soma da média quadrática, Fcal é o parâmetro de Fischer e p-valor o valor da probabilidade de significância.

Assim como obtido para a extração de proteínas dos demais farelos estudados, para a extração de proteínas do farelo de polpa, todos os coeficientes do modelo, lineares além da interação foram significativos, mas um termo não linear, de referente ao parâmetro pH, não foi significativo, ao nível de confiança de 95%, para os parâmetros investigados.

Pelo teste da ANOVA, o modelo que descreve o rendimento de extração de proteínas em função dos parâmetros de processo só é válido se o valor de F calculado (Fcal) for maior que o valor de F tabelado (F_{Tab}). O valor de F_{tab} para o teste F foi obtido a partir da Tabela de distribuição F apresentada no anexo para o nível de significância de 0,05 e considerando os graus de liberdade para regressão e o resíduo.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 24, o modelo se mostra válido, pois F_{cal} do modelo (606,192) é muito maior que F_{tab} (3,972). Além disso, o coeficiente de regressão do modelo (R^2), foi de 0,9975, o que demonstra que o modelo é capaz de representar 99,75% dos dados experimentais.

Quanto ao teste de falta de ajuste, que verifica se a falta de ajuste do modelo esta relacionada aos erros aleatórios experimentais ou ao modelo mal definido, o p-valor da falta de ajuste do modelo mostra-se maior que 0,05, o que indica que não há falta de ajuste no modelo obtido, portanto, o modelo descreve bem os dados experimentais, sendo útil inclusive para prever valores de rendimento, para qualquer valor dos parâmetros, dentro das faixas investigadas, conforme mostra a Tabela 23.

O modelo codificado que descreve o rendimento de extração de proteínas (R3%) do farelo de polpa da macaúba, em função dos parâmetros de processo pH (X_4) e razão sólido:solução (X_2), e validado pela ANOVA, na faixa de valores investigados, é descrito pela equação (3.4) a seguir:

$$R_3 = 91,50 + 11,27X_2 - 3,96X_2^2 + 4,93X_4 - 4,62X_2X_4 \quad \text{Equação 3.4}$$

Da equação 3.4 é possível notar, de forma análoga aos demais casos, que os coeficientes lineares do modelo exercem influência positiva sobre o rendimento, sendo a influência da razão sólido:solução cerca de 2,3 vezes maior que a do pH, comportamento diferente ao observado para os farelos de amendoim e amêndoa, mas coerente com os resultados do planejamento experimental ²⁴, uma vez que para este tipo de farelo a presença de fibras solúveis e carboidratos contribuem para a formação de uma solução viscosa que pode atrapalhar a extração. das proteínas. É importante mencionar que o termo quadrático para pH não foi significativo, o que pode comprometer a descrição do ponto ótimo de processo pelo modelo.

A partir dos valores experimentais de rendimento de extração e os valores preditos pelo modelo obtido do planejamento experimental representado pela equação 3.4, foi possível obter o gráfico representado na Figura 19 que demonstra a acuracidade do modelo em predizer e representar o comportamento dos dados experimentais, confirmando desta forma que não há falta de ajuste para o modelo.

A Figura 19 mostra a relação entre os valores de rendimento de extração preditos pelo modelo e os valores de rendimento obtidos experimentalmente.

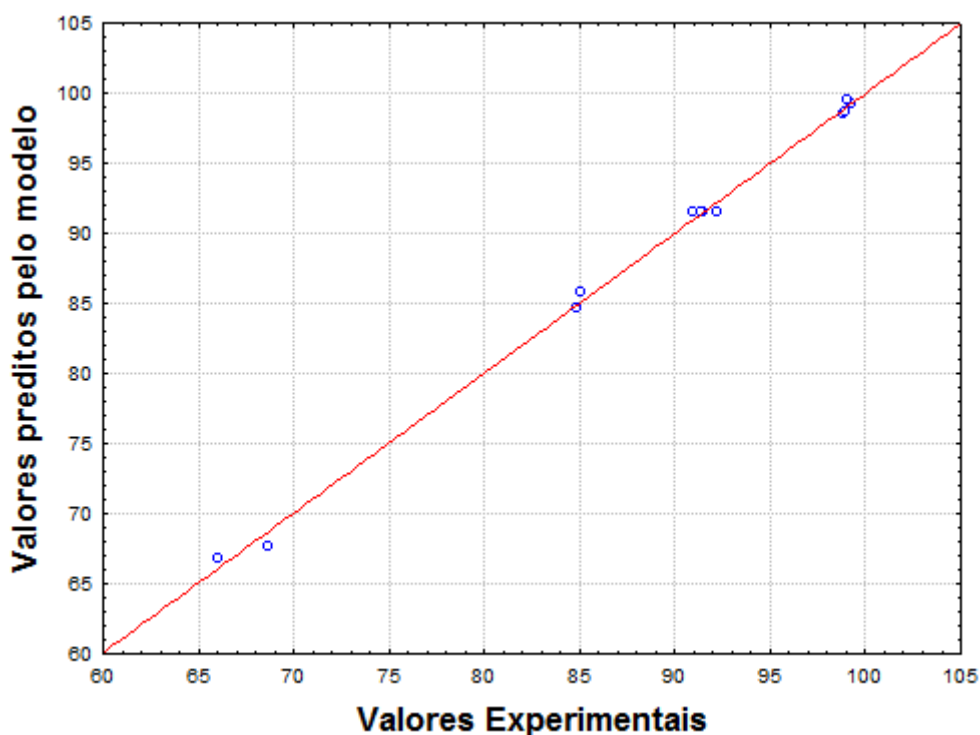


Figura 19- Relação entre dados do rendimento experimental e preditos pelo modelo de segunda ordem para proteínas da polpa de macaúba

Na Figura 19 observa uma boa relação entre os valores de rendimento preditos e os experimentais, ficando os valores experimentais em torno da reta que descreve os valores preditos, mostrando assim, uma boa aproximação dos valores reais, quando o modelo é utilizado para predição do comportamento real de extração de proteínas do farelo de polpa. Desta forma, confirma-se a boa representatividade do modelo obtido, onde R^2 é próximo da unidade.

Conforme havia sido observado anteriormente na Tabela 24, os valores dos parâmetros de processo X2 e X4 acima do ponto central maximizam o rendimento de extração, este comportamento pode ser melhor observado através da superfície de resposta obtida a partir da equação do modelo de rendimento de extração (equação 3.4), e que descreve o comportamento do rendimento (R3) em função das variações dos parâmetros X2 e X4, dentro dos limites investigados.

Na Figura 20 é apresentada a superfície de resposta do rendimento (R3) em relação aos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH, onde é possível verificar a região para os parâmetros, quando o rendimento é máximo.

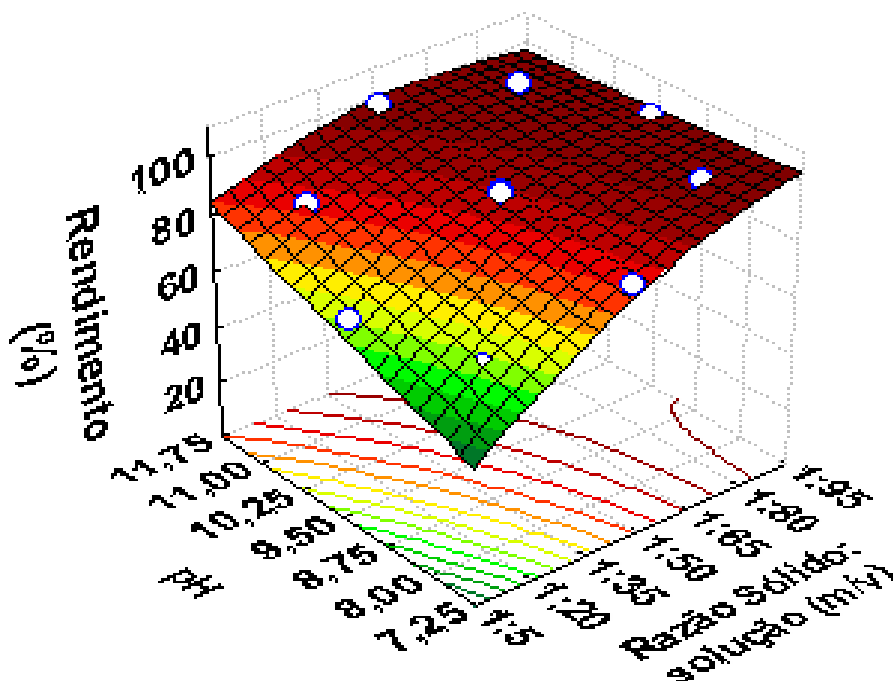


Figura 20 - Superfície de resposta para o rendimento de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba (R3) em função dos parâmetros X2 – razão sólido:solução e X4 – pH.

Na Figura 20 não é possível identificar, com clareza, o ponto ótimo para os parâmetros de processo, onde a resposta, extração de proteínas, é máxima. Isto era esperado, pois o modelo obtido, não possui um termo quadrático significativo para um dos parâmetros investigados.

Contudo, observando as linhas de contorno na Figura 20, é possível identificar a região dos parâmetros onde o rendimento tende ao ótimo. Devido a não significância do termo quadrático para o pH, em quase toda a faixa investigada deste parâmetro, o rendimento de extração se mantém acima de 90%, para razões sólido:solução entre 1:75 e 1:85. Este comportamento corrobora com as observações feitas no planejamento 2^4 , onde se observou, para a polpa de macaúba,

que na faixa de pH investigada, a influência do parâmetro razão sólido:solução é maior sobre o rendimento de extração de proteínas

A investigação de faixas mais amplas de pH pode melhorar os resultados de superfície de resposta. Porém, é sabido do estudo de solubilidade, que pH acima de 12, pouco influenciam no aumento de solubilidade das proteínas e consequentemente, para o aumento do rendimento de extração. Além disso, é importante lembrar que o pH pode estar influenciando também na extração de outros componentes como fibras solúveis e carboidratos que podem interferir no processo de extração das proteínas. Logo, utilizar proporções maiores de solução deve estar auxiliando na extração das proteínas, minimizando o efeito dos outros componentes em solução.

Contudo, um rendimento máximo acima de 95% foi obtido, o que reflete bom desempenho do processo químico de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba.

5.3. Confirmação e validação de resultados

Para validação e confirmação dos resultados de ponto ótimo, ou valores dos parâmetros que maximizam o rendimento de extração de proteínas por extração química, conforme obtido a partir do planejamento de otimização para os parâmetros de processo, pH e razão sólido:solução, foram realizados 3 experimentos para cada tipo de farelo, nas condições ótimas dos parâmetros de processo, conforme definido pela metodologia de superfície de resposta.

A Tabela 25 apresenta os valores dos parâmetros ótimos investigados, assim como os resultados de rendimento máximo experimental e predito pelos modelos empíricos obtidos no planejamento composto central.

Tabela 25 - Parâmetros do processo de extração química de proteínas otimizados e os respectivos rendimentos máximos experimental e predito.

Farelo	Parâmetros ótimos		Rendimentos (%)	
	Razão	pH	Predito	experimental
Amendoim	1:53	10,33	99,14	98,92±0,97
Amêndoa	1:48,5	10,38	64,34	65,58±0,62
Polpa	1:82	10,40	99,03	98,16±0,64

Na Tabela 25 nota-se que os valores experimentais para o rendimento máximo de extração, foram próximos aos obtidos e preditos pelos modelos, sendo obtido desvio máximo, entre os valores experimentais e preditos pelos modelos, de 1,9%. Este valor de desvio é satisfatório e coerente com os encontrados em trabalhos da literatura. Desta forma, pode-se dizer que os modelos obtidos podem prever satisfatoriamente o comportamento de extração de proteínas, dentro da faixa investigada dos parâmetros de processo.

Destaca-se que a extração química de proteínas a partir dos diferentes farelos foi satisfatória sendo atingido rendimento mínimo de 65% para farelo de amêndoa de macaúba e um máximo de 98,9 % para farelo de amendoim.

6. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados no presente trabalho estão de acordo com os efeitos de diferentes parâmetros avaliados em estudos da solubilidade de proteínas vegetais reportados na literatura. No geral, para todos os farelos investigados, com relação aos efeitos dos parâmetros investigados, a razão do solvente:sólido e pH foram os que tiveram efeito positivo e mais significativo no rendimento do processo de extração, enquanto que a concentração de sal na solução apresentou efeito negativo, ou seja o aumento da concentração do sal na solução diminui o rendimento e a temperatura apresentou efeito moderado.

Assim, foram escolhidos para a otimização dos parâmetros de processo aqueles apresentaram maior influência no rendimento, sendo a razão solvente:sólido e pH. Foram fixados os parâmetros; teor de sal em solução, no valor de concentração igual a zero e a temperatura, no valor de 25 °C, para todos os ensaios de extração. Os valores ótimos encontrados para os parâmetros de extração de proteínas no farelo de amendoim foram: razão solvente:sólido de 53,6:1 (v/m) e pH de 10,33 com rendimento máximo alcançado de 99,14% de proteínas, para o farelo de amêndoa de macaúba o maior rendimento de 64,34% e foi obtido usando razão máxima de solvente: sólido de 48,46:1 (v/m) e pH de 10,38, enquanto que para extração de proteínas da polpa de macaúba, os parâmetros estimados de forma aproximada como ótimos foram razão solvente:sólido de 82,40:1(v:m) e pH de 10,40 sendo obtido um rendimento máximo de 99,03%.

Desta forma a extração química de proteínas dos farelos investigados mostra-se viável mesmo a temperatura ambiente, sendo que para o farelo de amêndoa, matriz contendo alto teor de fibras insolúveis, a presença de fibras pode ter prejudicado o processo de extração, estando as proteínas retidas e protegidas por estas estruturas.

CAPITULO IV: ESTUDO CINÉTICO E TERMODINÂMICO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS

1. INTRODUÇÃO

A extração sólido-líquido no processo de recuperação de biomoléculas de resíduos agroindustriais, como as proteínas, compostos bioativos e outras biomoléculas a partir das tortas de oleaginosas geradas na indústria de processamento de óleos e biodiesel, tem sido alvo de investigações e pesquisas que visam não só otimizar os parâmetros de processo, mas também descrever os mecanismos envolvidos no processo de extração destes componentes. Tais informações são relevantes para o desenvolvimento de processos em grande escala e construção de equipamentos que permitam a obtenção de bons rendimentos, associado à produção sustentável, com minimização do uso de recursos naturais e aproveitamento eficiente dos resíduos agroindustriais (CISSÉ *et al.*, 2012; KITANOVIC *et al.*, 2008; SARKIS, 2014; UZOH *et al.*, 2014; ZHONG *et al.*, 2014).

O processo de extração sólido-líquido, também denominado de lixiviação, é comumente utilizado para a extração de moléculas de matrizes sólidas, empregando o princípio da dissolução ou solubilidade do composto de interesse em um solvente adequado (CHAN *et al.*, 2014). Diferentes tipos de indústrias empregam a operação unitária lixiviação para extração de componentes de interesse e produção de produtos, como é o caso da indústria metalúrgica na recuperação de minerais de sistemas sólidos complexos, das indústrias de alimentos e farmacêuticas para a extração de biomoléculas de matrizes vegetais, como na extração de açúcar de cana, extração de óleos vegetais, café, extração de compostos bioativos como taninos e a partir de partes de plantas, etc (CHAN *et al.*, 2014; TREYBAL, 1991).

Contudo, o conhecimento e a otimização dos parâmetros que influenciam o processo de solubilização das biomoléculas, bem como a descrição do comportamento cinético e dos mecanismos de transferência de massa, além do comportamento termodinâmico do sistema de extração ajudam o engenheiro a idealizar ou desenhar projetos mais reais e úteis nos processos industriais, além de otimizar o tempo de processo e a qualidade dos produtos obtidos (DIZGE, 2008; KITANOVIC *et al.* 2008; HOJNIC *et al.*, 2008; PINELO *et al.*, 2006).

Portanto, a modelagem matemática de dados experimentais cinéticos é uma importante ferramenta na descrição teórica dos mecanismos envolvidos nos

processos de extração sólido-líquido, principalmente quanto à cinética e a transferência de massa, sendo estes, princípios chave para o desenvolvimento de equipamentos de extração sólido-líquido (KITANOVIC *et al.*, 2008; SAXENA *et al* 2011).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Extração Sólido - Líquido (Lixiviação)

A extração sólido-líquido é uma operação que envolve o princípio de transferência de massa entre uma fase sólida, que contém o componente a ser extraído, e uma fase líquida para onde se transfere por solubilidade o componente de interesse. Este processo de extração, geralmente chamado de lixiviação, tem grande utilidade na indústria que processa compostos biológicos e alimentares, como a indústria de fármacos, cosméticos e alimentos, entre outras, que extraem e utilizam componentes normalmente encontrados em matrizes vegetais, como em partes de plantas, raízes, sementes, folhas e resíduos agroindustriais. A lixiviação também é muito aplicada na indústria metalúrgica para separação de metais de grande valor, como ouro, cobre, entre outros, que na maioria das vezes se encontram agregadas a outros componentes indesejáveis em uma matriz sólida (COULSON & RICHARDSON, 2002; GEANKOPLIS, 1998; KOTOVICZ, 2014).

Este processo de extração ou separação ocorre pelo mecanismo de solubilização do componente de interesse, chamado de soluto, e que se encontra agregado e distribuído na fase sólida, empregando-se um solvente.

Assim, a extração do soluto da matriz sólida para o solvente pode envolver os seguintes mecanismos ao longo de todo o processo: inicialmente, o solvente é transferido do meio líquido para a superfície da partícula sólida, depois o solvente penetra por difusão para o interior da partícula, dissolvendo o componente de interesse, o soluto. O soluto solubilizado no solvente (extrato) se difunde através da partícula sólida para a superfície da partícula, e finalmente, se transfere para a fase líquida que vai ficando cada vez mais concentrada em soluto (COULSON & RICHARDSON, 2002; GEANKOPLIS, 1998; IBARZ & BARBOSA-CÁNOVAS, 2003).

De um modo geral, as etapas iniciais de transferência do solvente para o sólido e através do sólido são rápidas e ocorrem facilmente nos momentos iniciais quando o sólido é colocado em contato com o solvente. No entanto, as etapas seguintes, dissolução e principalmente a transferência do soluto do interior da partícula para a superfície e da superfície para a solução, podem ser as etapas

limitantes da transferência de massa no processo de lixiviação, com forte dependência do equipamento de extração empregado, da natureza da matriz sólida e da interação de fatores do meio nomeadamente, a proporção sólido:solvente, o tipo de solvente, a concentração da solução, o pH, a força iônica, a temperatura, o tamanho das partículas da fase sólida, entre outras (BOGDANOV & SVINYAROV, 2013; CISSÉ *et al.*, 2012; FRANCO & PESSOA FILHO 2011;. ISLAM *et al.*, 2013; SARKIS, 2014; SU *et al.*, 2014; ZHONG *et al.*, 2014).

2.2. Fatores que influenciam a transferência de massa e a cinética na extração de proteínas

De um modo geral, a taxa de extração no processo sólido-líquido é acelerada pela redução do tamanho das partículas da matriz sólida, aumento da agitação no sistema e aumento da temperatura de extração. O equilíbrio entre as fases é obtido quando todo componente de interesse é extraído da fase sólida para a solução, em situações onde o volume do solvente encontra-se em excesso (BOGDANOV & SVINYAROV, 2013; COULSON & RICHARDSON, 2002).

Nos processos de extração de componentes de sistemas biológicos, por exemplo, uma complexidade adicional está associada ao processo de lixiviação, devido à presença de células. Neste contexto, tanto a “lavagem” do soluto livre na matriz quanto à difusão do soluto contido no interior das células da matriz são mecanismos importantes que descrevem a transferência de massa do processo (CHAN *et al.*, 2014; GEANKOPLIS, 1998; HOJNIC *et al.*, 2008).

Contudo, os mecanismos que controlam o processo de extração, assim como sua eficiência são dependentes das características do sistema e parâmetros de operação do processo, sendo importante avaliar como cada um afeta a extração de um determinado componente, principalmente quando o processo ocorre em condições muito específicas ou empregando matérias primas pouco estudadas, como é o caso da macaúba (CHAN *et al.*, 2014; HOJNIC *et al.*, 2008).

2.2.1 Tamanho de partícula e razão sólido:solvente

A área da superfície das partículas sólidas é diretamente proporcional à taxa de transferência de massa, ou seja, a redução de diâmetro das partículas reduz a distância a ser percorrida pelo soluto no interior do sólido e por isso, o tempo de extração (CHAN *et al.*, 2014; CISSEÉ *et al.*, 2012; SARKIS, 2014).

A literatura reporta o uso de partículas com diâmetro entre 0,1 mm e 0,5 mm para os processos de extração de biomoléculas como proteínas e óleos vegetais de matrizes vegetais como a faixa que garante rendimentos eficientes e qualidade dos produtos finais (CHAN *et al.*, 2014; STANZEL *et al.*, 2009; GEANKOPLIS, 1998).

Deste modo, a preparação da matriz sólida pode ser uma etapa necessária e importante para o processo de extração, uma vez que influencia no comportamento da transferência de massa do processo. Por isso, é comum o pré-tratamento das matrizes vegetais que possuem os componentes de interesse contidos no interior das células vegetais, empregando-se a moagem e trituração, para além de diminuir o tamanho de partícula, também romperem as células, expondo mais facilmente os componentes ao solvente de extração (CHAN *et al.*, 2014; CISSEÉ *et al.*, 2012; TREYBAL, 1991).

Nos casos dos resíduos gerados no processamento de óleos, os farelos, a prensagem mecânica da matéria prima para extração de óleos acaba por romper a maioria das células vegetais e expondo além do óleo, outros biocomponentes de interesse como as proteínas.

Em relação à proporção sólido:solvente, o aumento do volume de solvente, aumenta o gradiente de concentração entre as fases, e por isso, a transferência de massa, influenciando assim no rendimento. Além disso, o emprego de quantidade de solvente suficiente para solubilizar todo o conteúdo de soluto presente na fase sólida, evitando a saturação da fase líquida antes da extração de todo o soluto, garante máximo rendimento de extração para o processo. Desta forma, a proporção ideal entre as fases está intimamente ligada às características do solvente e do soluto a ser extraído.

No caso da extração de proteínas quando a proporção sólido:solvente é maior que 1:50, verifica-se maior gradiente de concentração entre as fases, o que contribui para redução do tempo de extração, contudo, o emprego de solvente em excesso pode aumentar os resíduos líquidos do processo, e acarretar em aumento de custos de destinação ou tratamento a jusante no processo (CHAN *et al.*, 2014; QU *et al.*, 2010; ZHONG *et al.*, 2014).

Razões de sólido:solvente entre 1:5 a 1:20 tem sido empregadas na maioria dos processos de extração sólido-líquido de matrizes vegetais. No entanto, é recomendável que para cada tipo de matéria prima e componente a ser extraído, as melhores condições para os parâmetros tamanho de partícula e razão sólido:solvente sejam investigadas e otimizadas (CHAN *et al.*, 2014; HOJNIK *et al.*, 2008; KARACABERY *et al.*, 2013; KITANOVIC *et al.*, 2008; SAXENA *et al.*, 2011).

2.2.2 Tipo de solvente de extração (força iônica, concentração e pH da solução)

Na extração sólido-líquido diferentes solventes de extração podem ser empregados, dependendo da natureza do soluto a ser extraído. Assim, se o objetivo é extrair componentes polares, solventes polares são comumente empregados, como água e soluções aquosas, mas se objetivo é extrair componentes apolares, solventes orgânicos apolares são preferidos, como hexano, éter de petróleo, entre outros.

Como o processo de extração sólido-líquido trata-se de um processo de solubilização na fase líquida, de um componente presente originalmente na fase sólida, a afinidade química entre soluto e solvente é de grande relevância, e por isso o pH, a força iônica da solução e o uso de diferentes tipos e composições de solvente podem influenciar no processo de transferência de massa do sistema (capacidade e velocidade de extração) (CHAN *et al.*, 2014; SAWADA, 2012).

Na extração de proteínas é comum o emprego de água ou soluções aquosas para a extração. O pH das soluções de extração influenciam fortemente o processo de extração de proteínas, uma vez que estas apresentam a propriedade de ser anfóteras, o que interfere na capacidade das proteínas se tornarem mais ou menos solúveis dependendo do pH da solução, sendo o ponto isoelétrico, a condição de pH onde as proteínas são menos solúveis.

A presença de sal nas soluções extratoras de proteínas também é importante, pois para uma solução salina, a força iônica do meio é diretamente proporcional a concentração de sal na solução. Na extração de proteínas empregando-se soluções salinas pode-se identificar 2 fenômenos associados a solubilidade da proteína; o efeito “*salting-in*” e o efeito “*salting-out*”.

O efeito “*salting in*” é um fenômeno associado ao aumento da solubilidade em concentrações baixas de sal ($< 0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$), enquanto o efeito de *salting out* é o fenômeno associado à precipitação de proteínas, menor solubilidade, em soluções com concentração salina ($>0,5 \text{ mol.dm}^{-3}$) (BOYE & BARBARA, 2012; CURTIS & LUE, 2006; DAMODARAN *et al.*; 2010; MACHADO *et al.*, 2006; PARSON *et al.*, 2011; ZHANG, 2012).

Desta forma, mesmo a proteína estando em uma solução onde o pH a torna menos solúvel (ponto isoelétrico), a adição de sal a este meio pode favorecer a solubilização da proteína, devido a uma camada iônica hidratada que se forma em sua superfície, solvatando a molécula e impedindo que a interação com as demais proteínas do meio resulte em precipitação ou menor solubilidade das proteínas no meio (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*; 2010).

2.2.3 Temperatura

No geral, quando se considera a transferência de massa, o aumento da temperatura exerce influência positiva sobre a capacidade de extração e transporte do componente, pois aumenta sua difusividade devido ao aumento da energia cinética das partículas, o que também facilita a solubilidade do componente no meio de extração. Entretanto, de acordo com CHAN *et al.* (2014), SU *et al.* (2014) e ZHONG *et al.* (2014), compostos sensíveis ao calor podem sofrer degradação o que compromete a qualidade do produto final, assim como o rendimento de extração.

Na extração de proteínas, a solubilidade das proteínas no meio de extração é proporcional ao aumento da temperatura, quando temperaturas até 40 °C são empregadas. No entanto, em temperaturas acima de 60 °C, verifica-se a desnaturação térmica das proteínas, fenômeno que está associado a modificações irreversíveis na conformação estrutural das mesmas, e que conseqüentemente, resulta em diminuição da solubilidade, e rendimento de extração (BOYE & BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*, 2010; MARTINEZ-MAQUEDA *et al.*, 2013).

2.3 Modelagem matemática da cinética e transferência de massa na extração sólido – líquido

Descrever o mecanismo pelo qual o processo de extração sólido-líquido ocorre é importante para delinear o processo industrial, pois é possível avaliar como diferentes condições de processamento interferem na transferência de massa, e por isso, na eficiência e rendimento do processo de extração. Contudo, a modelagem matemática que melhor se aplica e descreve os processos de extração sólido-líquido depende do modo operacional de como o processo é conduzido, portanto, diferentes modelos matemáticos são encontrados na literatura, com abordagens diferentes, para descrever processos de extração sólido-líquido específicos.

Na literatura é encontrada uma série de trabalhos que descrevem matematicamente o comportamento da extração sólido-líquido, em sistemas descontínuos, para diferentes tipos de biomoléculas presentes em matrizes sólidas diversas. Na Tabela 26, é apresentado um resumo que correlaciona diferentes trabalhos encontrados na literatura, com os respectivos modelos cinéticos empregados para descrever o mecanismo da extração sólido-líquido de diferentes componentes a partir de matrizes vegetais.

No geral, tanto o modelo dois estágios e o de segunda ordem, consideram que a taxa de extração é proporcional ao gradiente da concentração do soluto nas fases sólidas e líquidas e a parte esquerda das equações representa o acúmulo do sólido solúvel na fase líquida (CHAN *et al.*, 2014; ZHONG *et al.*, 2014).

Tabela 26-Trabalhos da literatura que empregaram os modelos cinéticos de primeira ordem, dois estágios, segunda ordem e de difusão na descrição da extração sólido-líquido.

Matriz sólida	Soluto extraído	Modelo	Autor
Soja	Óleo vegetal	Difusão e Segunda Ordem	Dagostin <i>et al.</i> (2015)
Jatrofa	Óleo vegetal	Segunda Ordem	Sayyar <i>et al.</i> (2009)
Frutos de Romã	Antioxidantes	Segunda Ordem	Qu <i>et al</i> (2010)
Caragana	Proteínas	Dois Estágios e Segunda Ordem	Zhong <i>et al.</i> (2014)
Glaucin Flavum	Compostos bioativos	Segunda Ordem	Bogdanov & Svinyarov (2013)
Frutas de Oliveira	Óleo de oliva	Dois Estágios	Meziane <i>et al.</i> (2006)
Sementes de Algodão	Óleo de algodão	Segunda Ordem	Saxena, <i>et al</i> (2011)
Sementes Pretas	Óleo essencial	Dois Estágios	Abdullah & Kok (2012)
Torta de Uva	Antioxidantes	Dois Estágios	Karabey <i>et al.</i> (2013)
Bagaço de Uva	Compostos fenólicos	Difusão	Tao <i>et al.</i> (2014)
Microalgas	Antioxidante (Ficocianina)	Segunda Ordem	Su <i>et al.</i> (2014).
Petalas de Flores de Marigold	Antioxidantes	Difusão	Hojnic <i>et al.</i> (2008)
Folhas de Erva Cidreira	Óleo	Difusão	Herodez <i>et al.</i> (2003)
Sementes de Cânhamo	Óleo	Dois Estágios	Kóstic <i>et al.</i> (2014)
Erva doce	Antioxidantes	Dois Estágios	Moubarik <i>et al</i> (2011)
Frutas de Oliveira	Óleo de Oliva	Dois Estágios	Armani & Kadi (2010)
Planta Hedýotis difusa	Compostos bioativos	Segunda Ordem	Wei & Yang (2014)
Fumária officinallis	Compostos bioativos	Segunda Ordem	Rakotondramassy-Rabesiaka <i>et al.</i> (2007)

Conforme se pode observar na Tabela 26, a literatura traz poucos estudos que abordam o processo de extração sólido-líquido para a extração de proteínas de resíduos agroindustriais. Portanto, a abordagem matemática da cinética de extração de proteínas torna-se relevante, a fim de contribuir para o entendimento e descrição do processo de extração gerando informações relevantes para o desenvolvimento de processos e equipamentos industriais eficientes.

2.3.1 Modelo cinético de primeira ordem

No processo de extração sólido-líquido, a velocidade de transferência de massa do soluto que se dissolve na fase líquida, a partir das partículas que compõem a fase sólida do sistema de extração, pode ser descrita de acordo com a

lei de Fick, considerando que o processo ocorre em um tanque agitado, e neste caso, a interface sólido-líquido é constituída por uma camada limite, onde a transferência de massa nesta controla o processo de extração (BIRD, 2002; COULSON & RICHARDSON, 2002; GEANKOPLIS, 1998; TARALKAR & GARKAL, 2010).

Assim, para descrever a cinética de extração sólido-líquido os seguintes pressupostos podem ser assumidos:

- 1.As partículas que constituem o material sólido devem ser de igual tamanho e isotrópicas;
- 2.A concentração do componente na matriz sólida é uniforme e varia apenas com o tempo;
- 3.A difusão ocorre em uma única direção, a partir da superfície da partícula;
- 4.O coeficiente de difusão ou coeficiente de transferência de massa volumétrica é considerado constante.

Assumindo os pressupostos acima, a taxa de soluto que se transfere da superfície sólida para a solução pode ser descrita pela equação 4.1. (GEANKOPLIS, 1998; COULSON & RICHARDSON'S, 2002):

$$N_A = K_L * A * (C_{AS} - C) \quad \text{Equação 4.1}$$

Onde N_A é a quantidade de soluto que se transfere da superfície sólida, por convecção, para a solução em cada instante (g.s^{-1}), K_L é o coeficiente de transferência de massa convectivo (cm/s), A é a área superficial da partícula sólida (cm^2), C_{AS} é a concentração de equilíbrio ou saturação do soluto no solvente (g.mL^{-1}), C_A é a concentração do soluto no solvente em cada instante (g.mL^{-1}).

Ao mesmo tempo, o parâmetro N_A é uma taxa que pode ser representada pela quantidade de soluto que é dissolvido na fase líquida em cada instante, devido à transferência de massa que ocorre decorrente do gradiente de concentração entre o sólido, que contém o soluto, e o solvente. Desta forma, a quantidade de soluto solubilizado no solvente de extração, em cada instante, pode ser descrito pela equação 4.2

$$N_A = \frac{VdC}{dt} \quad \text{Equação 4.2}$$

Onde V é o volume total do sistema sólido-líquido (em litros ou mL), C é a concentração de soluto no solvente ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), t é o tempo (em segundos ou minutos dependendo das unidades de referência).

Igualando as equações (4.1) e (4.2) se obtém a equação 4.3:

$$\frac{VdC}{dt} = K_L * A * (C_{AS} - C) \quad \text{Equação 4.3}$$

Realizando a separação de variáveis e integrando a equação conforme mostrado na equação 4.4, nas condições de contorno a seguir:

Para $t = 0$, $C = C_{A0}$, Concentração inicial do soluto no solvente;

Para $t = t$, $C = C$, Concentração no instante qualquer;

Para $t = \infty$, $C = C_{as}$, Concentração de equilíbrio no tempo infinito;

$$\int_{C_{A0}}^{C_{as}} \frac{dC}{(C_{as} - C)} = \frac{K_L * A}{V} * \int_{t=0}^{t=\infty} dt \quad \text{Equação 4.4}$$

Obtém-se a equação 4.5, que descreve o perfil da concentração de soluto no solvente ao longo do processo de extração sólido-líquido:

$$\frac{C_{as} - C}{C_{as} - C_{A0}} = e^{-\left(\frac{K_L * A}{V}\right) * t} \quad \text{Equação 4.5}$$

A equação 4.5 acima é uma função exponencial em relação ao tempo, descrevendo um processo cinético de primeira ordem, que comumente descreve processos de perda de atividade de biomoléculas, em diferentes condições. Este comportamento pode ser considerado similar ao observado para partículas sólidas que perdem algum componente que é transferindo para um meio líquido ou gasoso,

em contato com o sólido (GEANKOPLIS, 1998; COULSON & RICHARDSON'S, 2002).

Desta forma, a equação 4.5 pode ser reescrita, considerando a seguinte condição inicial:

Para $t = 0$, $C_{AO} = 0$, ou seja, inicialmente na extração sólido-líquido, o solvente encontra-se puro, livre de soluto que se transfere da fase sólida ao longo do processo.

Assim, se o volume do sistema de extração é constante, as constantes K_L , A e V , que independem do tempo, podem ser reescritas como uma única constante k , que representa o coeficiente de transferência de massa (min^{-1}), logo, a equação 4.5 é reescrita na forma da equação 4.6:

$$C(t) = C_{as}(1 - e^{-kt}) \quad \text{Equação 4.6}$$

A equação 4.6 pode ser utilizada para descrever o comportamento cinético do processo de extração sólido-líquido, ao longo do tempo de extração. É importante mencionar, que a equação 4.6 também pode ser reescrita em termos de rendimento de extração (R), assumindo a forma da equação 4.7.

$$R(t) = R_g(1 - e^{-kt}) \quad \text{Equação 4.7}$$

Contudo, conforme anteriormente mencionado, a descrição do comportamento da extração de biocomponentes a partir de matrizes vegetais pode ser complexa e contemplar diferentes mecanismos de transferência de massa, os quais não podem ser bem descritos pelo modelo cinético de primeira ordem.

De um modo geral, na extração de solutos a partir de matrizes vegetais, dois mecanismos de transferência de massa distintos podem ser relevantes, a saber, a etapa de lavagem ou arraste dos componentes contidos fora das células vegetais, devido a rompimentos gerados nos pré-processamentos da matriz, e a etapa difusiva, onde os componentes contidos intracelular são transportados através da parede celular (TREYBAL, 1991).

A etapa de lavagem ocorre mais rapidamente que a etapa de difusão, devidos a facilidade do soluto superficial e extracelular entrar em contato e se dissolver no solvente, se comparado ao soluto contido mais internamente e intracelular. Contudo, se a etapa de lavagem ocorrer muito rapidamente, o período de extração nesta etapa pode ser muito difícil de definir (NGOH *et al.*, 2014).

Logo, dependendo da forma como o processo de extração é conduzido, ambos ou apenas um dos mecanismos descritos se tornam relevantes para o processo de extração. Portanto, a partir desta abordagem, diferentes modelos vêm sendo aplicados para descrever de forma mais coerente o processo de extração sólido-líquido a partir de matrizes vegetais. Alguns destes modelos são abordados a seguir e serão utilizados no presente trabalho.

2.3.2. Modelo Cinético de dois Estágios (*Two-stage kinetic model*)

O modelo matemático proposto por SO & MACDONALD (1986) descreve o processo da extração sólido-líquido considerando dois mecanismos consecutivos, o de lavagem e o de difusão. É um modelo empírico, obtido a partir da modificação do modelo cinético de primeira ordem, que considera que as etapas de lavagem e difusão decorrem consecutivamente e que em cada uma das etapas pode ser usada a equação 4.6 para descrever a transferência de massa do soluto (CHAN *et al.*, 2014; MILIC *et al.*, 2013; ZHONG *et al.*, 2014).

a) Estágio de lavagem

Na etapa de lavagem, a maior parte do soluto é removida do sólido por simples arraste, onde nota-se uma alta taxa de transferência de massa da superfície do sólido para o solvente de extração, nos instantes iniciais do processo, principalmente devido ao grande gradiente de concentração gerado entre o sólido e o solvente fresco.

A equação (4.6) descreve o modelo matemático cinético para o mecanismo de transferência de massa na etapa de lavagem, que se pode rescrever na forma da equação 4.6. (a).

$$C_1(t) = C_{as1}(1 - e^{-k_1t}) \quad \text{Equação 4.6(a)}$$

Onde k_1 (min^{-1}) é o coeficiente de transferência de massa na etapa de lavagem, C_{as1} (g.ml^{-1}) é a concentração de soluto no solvente de extração na condição de equilíbrio na etapa de lavagem, $C_1(t)$ é a concentração de soluto no solvente em qualquer instante da lavagem.

b) Estágio de Difusão

Na etapa de difusão, o soluto remanescente é extraído por difusão, sendo observada uma diminuição da taxa de transferência de massa do soluto do interior do sólido para o solvente. Esta etapa torna-se significativa após a etapa de lavagem ser finalizada.

O modelo cinético descrito pela equação (4.6), que representa a transferência de massa do soluto da fase sólida para o solvente é válida também para a etapa de difusão. Assim, a equação (4.6) é reescrita pela equação (4.6.b).

$$C_2(t) = C_{as2}(1 - e^{-k_2t}) \quad \text{Equação 4.6(b)}$$

Neste caso, k_2 (min^{-1}) é o coeficiente de transferência de massa na etapa de difusão, C_{as2} (g.ml^{-1}) é a concentração de soluto no solvente na condição de equilíbrio, na etapa de difusão, $C_2(t)$ é a concentração de soluto no solvente em qualquer instante do processo de difusão.

Desta forma, o modelo empírico global que descreve o processo de extração sólido-líquido, onde as fases distintas de transferência de massa do soluto, a saber, lavagem e difusão são consideradas, são representadas pelas equações (4.8).

$$C(t) = C_{as1}(1 - e^{-k_1t}) + C_{as2}(1 - e^{-k_2t}) \quad \text{Equação 4.8(a)}$$

Ou na forma de rendimento:

$$R(t) = R_1(1 - e^{-k_1t}) + R_2(1 - e^{-k_2t}) \quad \text{Equação 4.8 (b)}$$

Onde $C_A(t)$ é a concentração de soluto no solvente em qualquer instante do processo ($\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). É importante notar, que no equilíbrio, a concentração final de soluto no solvente (C_e) será dada pela equação 4.9:

$$C_e = C_{as1} + C_{as2} \quad \text{Equação 4.9(a)}$$

Ou expresso na forma de rendimento:

$$R_e = R_1 + R_2 \quad \text{Equação 4.9(b)}$$

Esta consideração também será utilizada para análise dos dados experimentais.

Logo, os parâmetros do modelo de dois estagio são, C_{as1} e C_{as2} , k_1 e k_2 , que são obtidos a partir do ajuste do modelo aos dados experimentais de cinética de extração sólido-líquido. No presente trabalho, os dados serão expressos como rendimento, logo os parâmetros ajustados serão R_1 e R_2 , k_1 e k_2 .

A literatura reporta trabalhos envolvendo processos de extração sólido-líquido que empregam o modelo de dois estágios para descrição do processo de transferência de massa.

KARABERY *et al.* (2013) realizaram estudo da extração de antioxidantes a partir de engaço de uva, usando diferentes concentrações de etanol e diferentes faixas de temperatura. Os parâmetros do modelo de dois estágios apresentaram as seguintes faixas de valores para os parâmetros que representam a transferência de massa, k_1 e k_2 , 1,4453 a 8,867 (min^{-1}) e 0,0675 a 1,0720 (min^{-1}), respectivamente.

SAWADA (2012) investigou a extração de óleo e de ácidos graxos livres a partir da soja, empregando diferentes solventes orgânicos. Para a extração do óleo, os valores dos coeficientes de transferência de massa, para a lavagem (k_1) e difusão (k_2), obtidos segundo o modelo de dois estágios foram de até $0,62 \text{ min}^{-1}$ e $0,04 \text{ min}^{-1}$, respectivamente. Para a extração de ácidos graxos livre, os mesmos coeficientes atingiram valores de $0,66 \text{ min}^{-1}$ e $0,04 \text{ min}^{-1}$, respectivamente,

demonstrando para ambos os componentes que a etapa de lavagem é mais rápida que a de difusão.

Segundo ZHONG *et al.* (2014), os parâmetros de transferência de massa obtidos para a extração de proteínas de caragana, empregando solução aquosa alcalina, em diferentes condições de processo, alcançaram os seguintes valores: para concentrações do solvente NaOH variando de 0,02 a 0,1 mol.dm⁻³ os valores de C1 estiveram na faixa de 20,75 a 23,45 mg.g⁻¹ enquanto que C2 os valores estiveram entre 8,72 a 13,93 mg.g⁻¹. Considerando a variação da temperatura na faixa de 293 a 313 K, os parâmetros C1 e C2 variaram entre 20,61 a 26,62 mg.g⁻¹ e 14,02 a 16,31 mg.g⁻¹, respectivamente, em todos casos verificando-se sempre C1 maior que C2 e a maior concentração e temperatura favoreceram a extração.

MOUBARIK *et al.* (2011) investigaram o comportamento cinético da extração de solutos presentes na erva doce, empregando diferentes tecnologias, como, campo elétrico pulsante, descarga elétrica e irradiação ultrassônica. Os coeficientes de transferência de massa na fase de lavagem e difusão, para as diferentes tecnologias alcançaram valores de até 0,286 (min⁻¹) e 0,018 (min⁻¹), respectivamente. Para todos os processos testados, a razão entre k1/k2 variou de 15 a 20, sendo a melhor tecnologia empregada no processo de extração, a descarga elétrica e a irradiação ultrassônica.

2.3.3. Modelo cinético de segunda ordem

O modelo cinético de segunda ordem, também é usado para descrever os processos de extração sólido-líquido em matrizes vegetais, e é considerado um modelo global, pois considera que o mecanismo de extração na fase de lavagem e difusão ocorre simultaneamente, sem distinção clara entre as etapas. Este modelo descreve muito bem o processo de extração de óleos vegetais, óleos essenciais, compostos antioxidantes e compostos bioativos, de matrizes vegetais (BOCIK-KOJIC, 2013; CHAN *et al.*, 2014; DAGOSTIN *et al.*, 2015; KARABERY *et al.*, 2013; POOJARY & PASSAMONTI, 2015; XI *et al.*, 2014; ZHONG *et al.*, 2014).

O emprego do modelo cinético de segunda ordem, visando a descrição da cinética de extração dos processos sólido-líquido, adota como pressuposto um

comportamento semelhante ao observado para a cinética de reações heterogêneas, onde o mecanismo de adsorção está envolvido no processo, que são modeladas de acordo com a lei de velocidade exponencial descrita pela equação (4.10) (AMIN *et al.*, 2010; LENVISPIER, 1999; LUIS *et al.*, 2008; ZAHIR *et al.*, 2015).

$$Y = k.X^n \quad \text{Equação 4.10}$$

Assim, o modelo matemático de segunda ordem considera que os processos de extração sólido-líquido são descritos de forma análoga a cinética de segunda ordem para processos reacionais em batelada, e por isso, podem ser representados pela equação (4.11), que representa a taxa de extração do soluto para a fase solvente de acordo com AMIN *et al.* (2010) e DAGOSTIN *et al.* (2015).

$$\frac{dC}{dt} = k(C_e - C)^2 \quad \text{Equação 4.11}$$

Onde, k é o coeficiente de transferência de massa ($\text{mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$), C_e é a concentração de soluto no solvente no equilíbrio (g/mL) e C é a concentração de soluto no solvente em qualquer instante (t) (g/mL).

Resolvendo a equação (4.11) considerando as condições de contorno a seguir:

Para $t=0$, $C = 0$,

Para $t = \infty$, $C = C_e$,

A equação (4.12) é obtida, e descreve o perfil de concentração de soluto extraído pelo solvente ao longo do tempo de processo.

$$C(t) = \frac{k.t.C_e^2}{1 + k.t.C_e} \quad \text{Equação 4.12}$$

A equação (4.12) pode ser linearizada para facilmente se determinar os parâmetros do modelo cinético de segunda ordem para o processo de extração sólido-líquido. A equação linearizada é apresentada abaixo pela equação (4.13):

$$\frac{t}{C} = \frac{1}{k \cdot C_e^2} + \frac{t}{C_e} \quad \text{Equação 4.13}$$

O ajuste do modelo linearizado, aos dados experimentais cinéticos do processo de extração resultam na determinação dos parâmetros cinéticos do modelo, C_e e k , que representam a capacidade máxima de soluto extraído e a capacidade de transferência de massa no processo, em diferentes condições de operação.

Os parâmetros do modelo podem também ser representados pela constante h ($\text{g} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), segundo a equação (4.13a), que representa a taxa inicial de extração do soluto.

$$h = kC_e^2 \quad \text{Equação 4.13(a)}$$

É importante mencionar que o modelo também pode ser expresso em termos do rendimento de extração (R). Neste caso, os parâmetros k e h assumem as unidades de (min^{-1}) de acordo com a equação 4.13.b.

$$\frac{t}{R} = \frac{1}{k \cdot R_e^2} + \frac{t}{R_e} \quad \text{Equação 4.13 (b)}$$

E o parâmetro h pode ser dado pela equação 4.13.c

$$h = kR_e^2 \quad \text{Equação 4.13(c)}$$

A literatura reporta trabalhos que empregam o modelo de segunda ordem para descrição do comportamento da extração sólido-líquido.

WEI & YANG (2014) investigaram a extração de ácido oleanólico e ursólico a partir de *Hedyotis diffusa*, os valores dos parâmetros k e h do modelo de segunda ordem variaram, respectivamente, entre 0,915 a 0,696 ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) e 0,298 a 0,524 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), para o ácido oleanólico e de 0,218 a 0,159 ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) e 1,271 a 2,055 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) para o ácido ursólico.

QU *et al.* (2010), na extração sólido-líquido de antioxidantes a partir de bagaço das sementes de romã, obtiveram os seguintes parâmetros cinéticos para o modelo de segunda ordem, k e h , 1,95 a 6,31 ($L.g^{-1}.min^{-1}$) e 10,5 a 100,72 ($g.L^{-1}.min^{-1}$), respectivamente.

TZIMA *et al.* (2014) no estudo da modelagem de extração de flavonóides a partir de bagaço de uva utilizando solventes orgânicos obtiveram para os parâmetros cinéticos do modelo de segunda ordem valores de k 1,90 a 3,06 ($g.mg^{-1}.min^{-1}$) e h entre 5,05 a 9,66 ($mg.g^{-1}.min^{-1}$).

HO *et al.* (2008) na modelagem da extração sólido-líquido de compostos antioxidantes a partir do tronco de Tilia, obtiveram valores para os parâmetros cinéticos do modelo de segunda ordem entre 0,0141 a 0,0406 ($L.g^{-1}.min^{-1}$) para k e entre 0,0193 a 0,103 ($g.L^{-1}.min^{-1}$) para h .

DAGOSTIN *et al.* (2015) na extração de óleo de soja usando etanol como solvente de extração obtiveram valores para k entre 2,669 a 2,024 (min^{-1}) e para h entre 0,065 a 0,139 (min^{-1}).

SU *et al.* (2014) investigaram a cinética de extração de ficocianina¹ de microalgas da espécie *Spirulina platensis*. O modelo cinético de segunda ordem descreveu com sucesso os dados experimentais ($R^2 = 0,99$), sendo obtidos valores para o coeficiente de transferência de massa (k) na faixa de $3,82 \times 10^{-3}$ a $15,2 \times 10^{-3}$ ($L.g^{-1}.min^{-1}$).

ZHONG *et al.* (2014) investigaram a extração de proteínas de caragana, empregando solução aquosa alcalina, em diferentes condições de processo. O coeficiente de transferência de massa do modelo de segunda ordem (k), obtido a partir dos dados experimentais, apresentou valores da ordem de $5,93 \times 10^{-3}$ a $16,01 \times 10^{-3}$ ($mL.g^{-1}.min^{-1}$).

¹ Ficocianina é uma proteína que se apresenta na forma de um pigmento de cor azul que é extraído de microalgas com propriedades antioxidantes (BERTOLOLIN *et al.*, 2011)

2.3.4. Modelo de transferência de massa difusivo proposto por Osbourne e Katz (1944)

Uma abordagem um pouco diferente do mecanismo de extração sólido-líquido foi proposta por Osbourne e Katz em 1944 segundo CHAN *et al.* (2014), HERODEZ *et al.* (2003) e HOJNIK *et al.* (2008).

No processo de extração sólido-líquido, quando uma esfera sólida, porosa e homogênea, inicialmente com concentração uniforme, é imersa em uma fase líquida suficientemente agitada, o mecanismo de transferência de massa do soluto presente na fase sólida, para a fase líquida, pode ser dividido em duas etapas.

A primeira que é representada por uma etapa com taxa de extração constante e muito rápida, denominada de lavagem, onde o processo de transferência de massa em estado estacionário prevalece com resistência a transferência de massa controlada pelo filme na interface sólido-solvente. E a segunda que é caracterizada por uma taxa de extração decrescente e muito lenta, onde a transferência de massa ocorre em estado transiente, sendo a resistência a transferência de massa controlada pela difusão intrapartícula (CHAN *et al.*, 2014; HERODEZ *et al.*, 2003; HOJNIK *et al.*, 2008; TAO *et al.*, 2014).

Neste contexto, a etapa mais importante, ou que limita o processo de extração sólido-líquido é a difusão do soluto na matriz sólida, sendo a resistência a transferência de massa externa desprezível. O modelo de transferência de massa intrapartícula, para os processos de extração sólido-líquido, foi baseado na segunda lei de Fick, segundo a equação 4.14.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_e \cdot \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} \quad \text{Equação 4.14}$$

Considerando a seguinte condição inicial e de contorno, para um sistema suficientemente agitado e com volume ilimitado de fase líquida:

Condição inicial: $t = 0, C = C_{AO}$; para $0 < r < R$

Condições de contorno: $t > 0, C = C_{As}$, para $r = R$

$$t > 0, \partial C / \partial r = 0 \text{ para } r = 0$$

Onde C é a concentração do soluto na fase sólida em qualquer instante (g/g), C_{AO} a concentração de soluto no sólido inicialmente, C_{as} a concentração de soluto na superfície do sólido no equilíbrio, t é o tempo ao longo do processo de extração (segundos), De é a difusividade efetiva intrapartícula ($m^2.s^{-1}$), e r é o raio da partícula sólida que contem o soluto a ser extraído (m).

Logo, a difusividade é um importante parâmetro de transferência de massa que reflete o quão rápido pode ser o processo de difusão e por isso de extração. A determinação deste parâmetro se torna importante para descrição e entendimento do processo de extração sólido-líquido empregando-se diferentes solventes, matrizes e condições de processo (CHAN *et al.*, 2014; HOJNIC *et al.*, 2008; TAO *et al.*, 2014).

Adicionalmente, para a resolução da equação 4.14, são assumidas as seguintes aproximações para o processo de extração:

- A difusão do soluto é unidirecional e caracterizada por coeficiente de difusão constante;
- A resistência externa a transferência de massa é desprezível;
- Na interface entre o sólido e o solvente, a concentração é constante;
- A fase líquida é suficientemente diluída;
- Não existe interação entre diversos componentes da matriz e o soluto durante a difusão.

Assumindo as considerações e condições de contorno acima, a solução genérica para a equação diferencial ordinária da segunda lei de Fick (equação 4.14) resulta na equação 4.15, de acordo com CHAN *et al.* (2014), HOJNIC *et al.* (2008):

$$\frac{C - C_{AO}}{C_{as} - C_{AO}} = 1 + \left[\frac{2R}{\pi r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \sin \frac{\pi n r}{R} \exp \left\{ - \frac{De \cdot n^2 \pi^2}{R^2} t \right\} \right] \quad \text{Equação 4.15}$$

Assim, a equação 4.15 pode ser reescrita em termos da quantidade de massa transferida da fase sólida em qualquer tempo ($M(t)$), em relação à massa total transferida até o equilíbrio (M_{as}), sendo obtida a equação 4.16 de acordo com CHAN *et al.* (2014), DAGOSTIN *et al.* (2015), HOJNIC *et al.* (2008):

$$\frac{M(t)}{M_{as}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left\{-\frac{De \cdot n^2 \cdot \pi^2}{R^2} t\right\} \quad \text{Equação 4.16}$$

Na equação (4.16), em um período curto de tempo, todos os termos da equação, exceto o primeiro, se tornam desprezíveis, principalmente devido ao processo de extração ser controlado pela etapa de difusão intrapartícula, ocorrendo a etapa de lavagem inicial, instantaneamente no processo. Logo, o truncamento da série apresentada na equação 4.16 no primeiro termo, pode ser considerada uma aproximação razoável para a descrição do processo de transferência de massa controlado pela difusão intrapartícula e considerando que a massa transferida de soluto da fase sólida em qualquer instante t é igual a concentração de soluto na fase líquida (C) pode se obter a equação 4.17 (CHAN *et al.*, 2014; DAGOSTIN *et al.*, 2015; HOJNIC *et al.*, 2008).

$$\ln\left(\frac{C_{as}}{C_{as} - C}\right) = 0,498 + \frac{9,87 * De}{R^2} * t \quad \text{Equação 4.17}$$

Onde C_{as} é a concentração do soluto no solvente de extração no equilíbrio (g/ml), C é a concentração do soluto no solvente em qualquer instante t (g/ml), R é o raio médio das partículas que constituem a fase sólida (m); De é a difusividade efetiva ($m^2 \cdot s^{-1}$).

Na prática, construindo-se a curva de $\ln(C_{as}/(C_{as}-C))$ ou no caso do presente trabalho $\ln(R_{as}/(R_{as}-R))$ em função do tempo, a partir de dados experimentais cinéticos, obtém-se a descrição de uma curva com duas regiões distintas, onde cada região pode ser representada pelos pontos experimentais como uma reta. A primeira região, ou reta, é mais íngreme, refletindo um estágio de transferência de massa rápido, enquanto a segunda reta é mais inclinada e representa um processo mais lento. O intercepto entre as retas caracteriza um ponto denominado de ponto de

transição, que reflete exatamente quando a difusão intrapartícula passa da etapa rápida para a lenta (CHAN *et al.*, 2014; DAGOSTIN *et al.*, 2015; HOJNIC *et al.*, 2008; KOSTIC *et al.*, 2014; ZHONG *et al.*, 2014).

A Figura 21 apresenta o comportamento da curva mencionada, demonstrando as duas regiões lineares que descrevem processos distintos de transferência de massa.

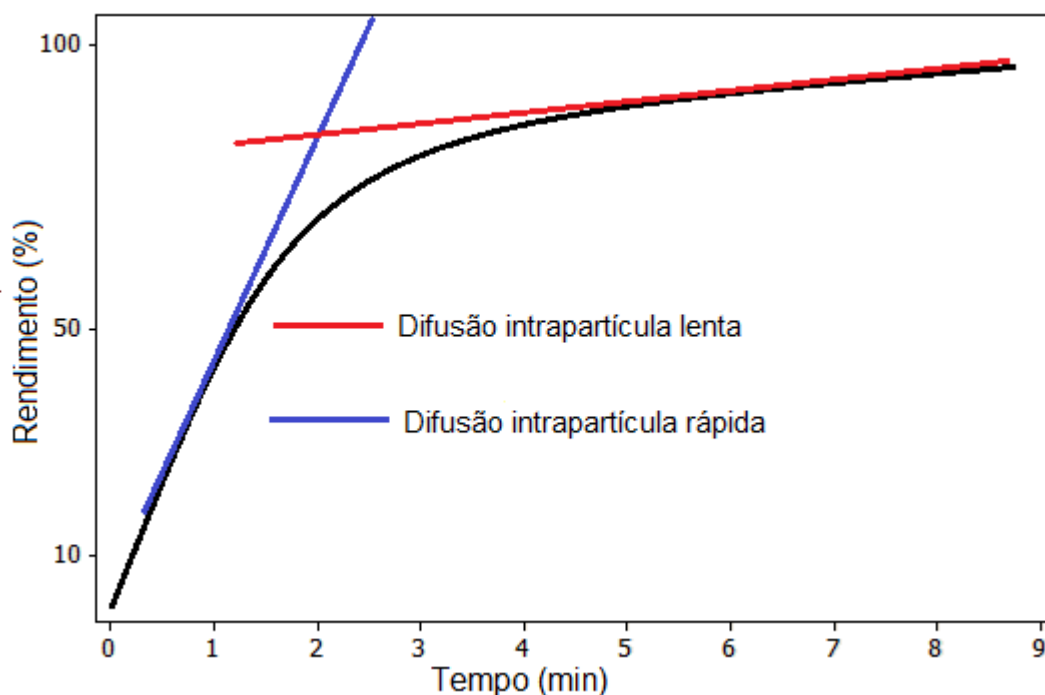


Figura 21- Representação das etapas rápida e lenta do processo de extração sólido-líquido descrito pelo modelo de difusão intrapartícula, segundo (CHAN *et al.*, 2014).

Assim, de acordo com CHAN *et al.* (2014), HERODEZ *et al.* (2003) e HOJNIK *et al.* (2008) a abordagem proposta por Osbourne e Katz em 1944 a modelagem da extração de biocomponentes de matrizes vegetais e outros processos de separação sólido-líquido deve considerar tanto a etapa rápida da difusão, como a lenta, conforme modelo descrito na equação 4.18.

$$\frac{C_{as} - C}{C_{as}} = \frac{6}{\pi^2} \left[f1. \exp\left(-\frac{\pi^2 D_1}{R^2} \cdot t\right) + f2. \exp\left(-\frac{\pi^2 D_2}{R^2} t\right) \right] \quad \text{Equação 4.18}$$

Ou considerando o rendimento do processo, R_{as} será o rendimento de equilíbrio e R é o valor de rendimento experimental em cada instante considerado.

$$\frac{R_{as} - R}{R_{as}} = \frac{6}{\pi^2} \left[f1. \exp\left(-\frac{\pi^2 D_1}{R^2} \cdot t\right) + f2. \exp\left(-\frac{\pi^2 D_2}{R^2} t\right) \right] \quad \text{Equação 4.18 a}$$

Assim, na equação 4.18 a nota-se dois termos exponenciais distintos, um que representa a fase de lavagem e outro a de difusão, onde $f1$ e $f2$ são as frações de soluto que são extraídas com coeficientes de difusão D_1 e D_2 , respectivamente, na etapa rápida e lenta.

Na etapa mais lenta de extração, que ocorre em período de tempo mais avançado da extração, apenas o segundo termo exponencial da equação 4.18 é significativo, logo D_2 é obtido a partir do coeficiente angular da reta que descreve esta etapa e $f2$ é obtido da interseção da reta com o eixo y, no gráfico representado pelos dados experimentais (Figura 21). No entanto, no início do processo de extração, o segundo termo exponencial da equação 4.17 é próximo de 1 e por isso, D_1 e $f1$ podem ser determinado, considerando os dados experimentais que descrevem esta região (HERODEZ *et al.*, 2003; HOJNIK *et al.*, 2008; TAO *et al.*, 2014).

O principal parâmetro de interesse no modelamento de dados experimentais do processo de extração sólido-líquido, segundo a equação 4.17 é o coeficiente de difusão (D). A magnitude do coeficiente de difusão reflete a facilidade com a qual um soluto pode ser transferido de uma fase sólida para uma líquida, sendo então, um parâmetro indispensável para avaliação, dimensionamento e otimização dos processos industriais de extração (CHAN *et al.*, 2014; HOJNIK *et al.*, 2008).

Na literatura diferentes trabalhos reportam o emprego do modelo proposto por Osbourn e Katz para a descrição do processo de extração sólido-líquido de diferentes componentes de matrizes sólidas. No trabalho realizado HERODEZ *et al.* (2003) valores de coeficiente de difusão D_1 da ordem de 10^{-12} a 10^{-11} $m^2.s^{-1}$ e D_2 de 10^{-13} $m^2.s^{-1}$, foram reportados para a extração de antioxidantes de folhas de erva cidreira (*Melissa officinalis*) empregando-se etanol.

HOJNIC *et al.* (2008) determinaram os coeficientes de difusão D1 e D2 para a extração de luteína de pétalas de flores, utilizando o hexano como solvente. De acordo com os autores, a temperatura, assim como, a razão sólido: solvente exercem influência sobre o rendimento e a facilidade com que o soluto é extraído, principalmente devido a maior mobilidade do soluto, em maiores temperaturas, e ao maior gradiente de concentração entre as fases, quando em diferentes proporções. Os valores dos coeficientes de difusão chegaram a $6,28 \times 10^{-12} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ para D1 e $1,1 \times 10^{-14} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ para D2.

TAO *et al.* (2014) no estudo da modelagem na extração de compostos fenólicos a partir de bagaço de uva, usando solvente constituído por 50% de etanol, e água, com partículas de 0,425 mm e razão de 1:20, durante 80 min, os parâmetros do modelo difusivo de dois estágios variando a temperatura de 20 a 50 °C foram os seguintes: D1 de 2,44 a $4,51 \times 10^{-11} \text{ (m}^2\text{s}^{-1})$ e f1 de 0,856 a 0,875 e D2 de 3,94 a $5,09 \times 10^{-12} \text{ (m}^2\text{s}^{-1})$ com respectivo f2 de 0,125 a 0,144.

2.3. 5. Termodinâmica do processo de extração sólido-líquido

No processo de separação sólido-líquido, onde a solubilidade é o mecanismo chave que sustenta o processo de extração entre as fases, as forças intermoleculares são as responsáveis pela solubilidade ou dissolução do soluto (fase sólida), em contato com o solvente (fase líquida). Na ausência de fenômenos químicos, a dissolução é acompanhada por uma diminuição da energia livre de Gibbs do sistema e uma entalpia negativa que caracteriza um processo favorável (PRAUNITZ, 2000; SVAROVSKY, 2001).

Por outro lado, a relação entre energia livre de Gibbs e entropia constitui um importante critério que define a separação em sistemas sólido-líquido, podendo a partir da variação de temperatura estimar os parâmetros termodinâmicos do processo que refletem o comportamento da extração. A entropia mede a desordem do sistema, no caso particular, constituído por uma fase sólida (soluto) e uma fase líquida (solvente). A energia interna total do sistema (ΔU), a pressão constante, é equivalente a entalpia do sistema (ΔH). Assim, o critério termodinâmico a ser considerado na extração sólido-líquido sugere que ΔG deve ser negativo, refletindo um processo espontâneo, $T\Delta S > \Delta H$, indicando que a agitação interna das partículas

no sistema favorece a separação e que os mecanismos e forças de ligação predominantes entre solutos no interior da matriz sólida são de natureza física e não química (CHAN *et al.*, 2014; KOSTIC´ *et al.*, 2014; ZHONG *et al.*, 2014).

Em sistemas de extração e separação sólido-líquido, o aumento da temperatura geralmente leva à diminuição da tensão superficial e da constante dielétrica do solvente, com isso, verifica-se o aumento do processo de transferência de massa no interior do sólido, dentro de uma faixa de temperatura considerada moderada. Por outro lado, especificamente no processo de extração de proteínas, altas temperaturas podem afetar a estrutura da molécula de proteína (geralmente acima de 50 °C), trazendo como consequência a diminuição da solubilidade e redução da transferência de massa (SAXENA *et al.*, 2011; ZHONG *et al.*, 2014).

Através dos parâmetros termodinâmicos, a saber, ΔS , ΔH e ΔG , variação da entropia, variação da entalpia e variação da energia livre de Gibbs, respectivamente, parâmetros estes dependentes da temperatura, é possível avaliar o processo de extração sólido-líquido em termos de sua facilidade e viabilidade em diferentes condições de processo. Os parâmetros termodinâmicos relacionam-se entre si através da equação de Vant´Hoff, equação 4.19, e da equação de energia livre de Gibbs, equação 4.20

$$\ln K_e = -\frac{\Delta H}{R} * \frac{1}{T} + \frac{\Delta S}{R} \quad \text{Equação 4.19}$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \text{Equação 4.20}$$

Onde R é a constante universal de gases ideais (8,314 J/mol.K), T é a temperatura absoluta em Kelvin, ΔS a variação da entropia (J/mol.K), ΔH a variação da entalpia (J/mol), e ΔG é a variação da energia livre de Gibbs (J/mol) e K_e (adimensional) é a constante de equilíbrio termodinâmico entre as fases líquida e sólida, obtida a partir da razão entre a quantidade de soluto extraído e presente na fase líquida no equilíbrio, a uma dada temperatura e a quantidade de soluto não extraído e remanescente na fase sólida no equilíbrio, a uma dada temperatura, representado em termos de rendimento (Re) pela equação 4.21.

$$K_e = \frac{Re}{100 - Re} \quad \text{Equação 4.21}$$

Onde Re é o rendimento de soluto extraído no equilíbrio (%) a uma dada temperatura T e $(100-Re)$ é a quantidade remanescente de soluto na fase sólida no equilíbrio a uma dada temperatura T .

A constante de equilíbrio do processo de extração sólido-líquido (K_e) pode ser obtida a partir dos parâmetros ajustados dos modelos cinéticos, para os dados experimentais. A partir da determinação de K_e para diferentes temperaturas de processo, é possível através das equações 4.19 e 4.20 obter os parâmetros termodinâmicos de processo, ΔS , ΔH e ΔG (SEXANA *et al.*, 2011; ZHONG *et al.*, 2014).

O entendimento da quantificação dos parâmetros termodinâmicos visa identificar a influência da temperatura no processo de extração, tendo em vista a importância da temperatura não apenas do ponto de vista de viabilidade e sustentabilidade econômica dos processos, mas da necessidade energética associada ao processo de extração, para obtenção de bons rendimentos de processo em condições favoráveis de extração. Este delineamento do processo de extração é um aspecto crucial para o desenho e dimensionamento dos projetos de engenharia nos processos de separação de acordo com CHAN *et al.* (2014) e ZHONG *et al.* (2014).

A literatura reporta alguns trabalhos onde os parâmetros termodinâmicos do processo de extração sólido-líquido foram determinados para a extração de biocomponentes de matrizes vegetais.

ZHONG *et al.* (2014) determinaram os parâmetros termodinâmicos para a extração de proteínas de caragana, obtendo valores da variação da entalpia (ΔH) e variação da entropia (ΔS) de 21,08 kJ.mol⁻¹ e 84,76 J.mol⁻¹.K⁻¹, respectivamente, no intervalo da temperatura de 20 a 40 °C, sendo observado que com aumento da temperatura, os valores de ΔG decresceram de - 3,77 para - 5,46 kJ.mol⁻¹, o que

leva a conclusão de que o processo de extração de proteínas foi espontâneo, fisicamente possível e endotérmico, sendo favorecido pelo aumento da temperatura.

De forma semelhante, KOSTIC *et al.* (2014) determinou os parâmetros termodinâmicos do processo de extração de óleo das sementes de cânhamo usando hexano como solvente, na faixa de temperatura de 20 a 70°C. Os valores dos parâmetros obtidos foram, ΔS de 44,19 J.mol⁻¹K⁻¹, ΔH de 10,54 kJ.mol⁻¹ e ΔG variando de - 2,41 a - 4,62 kJ.mol⁻¹. Com base nos resultados foi possível concluir que o processo de extração é espontâneo, irreversível e endotérmico.

DAGOSTIN *et al.* (2015) também determinaram os parâmetros termodinâmicos na extração de óleo de soja usando etanol como solvente. Na faixa de temperatura de 25 a 55 °C, os valores de ΔH e ΔS foram 95,01 kJ.mol⁻¹ e 320,02 J.mol⁻¹K⁻¹, respectivamente, enquanto ΔG apresentou uma variação de - 0,41 a - 11,61 kJ.mol⁻¹. A partir dos resultados, os autores concluíram que o processo é endotérmico, o valor positivo da entropia indica que o processo é irreversível, enquanto que os valores de energia livre de Gibbs são negativos, indicando que o processo é espontâneo. O valor de ΔG decresce com o aumento da temperatura sugere que o aumento da temperatura favorece a extração do óleo.

A descrição da cinética do processo de extração sólido-líquido, através de modelos matemáticos que representam o mecanismo de transferência de massa durante o processo, somada a descrição dos parâmetros termodinâmicos do processo, constitui um dos objetos das pesquisas na área de engenharia de processos, pois possibilita a simulação e otimização dos processos de extração, minimizando custos e tempo no desenvolvimento, implantação e aperfeiçoamento dos processos industriais, sendo indispensável principalmente para matérias primas emergentes, como é o caso da macaúba, quando informações na literatura são escassas e limitam o aproveitamento industrial das mesmas.

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Com base no exposto, o objetivo geral neste capítulo, é investigar e descrever os mecanismos cinéticos, de transferência de massa e termodinâmicos envolvidos no processo de extração de proteínas dos farelos de amendoim e de polpa e amêndoa de macaúba.

Os objetivos específicos

-Descrever a cinética e os parâmetros de transferência de massa na extração de proteínas usando modelos de dois estágios

-Descrever os dados experimentais usando a cinética e transferência de massa de proteínas usando modelos de segunda ordem;

-Descrever os dados usando modelo de Osbourne e Katz (1944) em diferentes condições de processo,

-Descrever a termodinâmica do processo de extração e obter-se parâmetros que refletem o comportamento termodinâmico do processo de extração, em diferentes condições operacionais.

Desta forma, será possível avaliar a aplicabilidade dos modelos e seus mecanismos ao processo investigado, assim como avaliar o desempenho do processo em diferentes condições, identificando as principais influências dos parâmetros de operação nos mecanismos envolvidos na extração de proteínas de matrizes vegetais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

Todos os, materiais, equipamentos e reagentes utilizados nos ensaios foram os mesmos descritos anteriormente no capítulo II.

4.2. Métodos

4.2.1 Ensaios cinéticos de extração de proteínas dos farelos

O estudo cinético de extração de proteínas dos farelos foi realizado seguindo metodologia adaptada e proposta por BOGDANOV e SVINYAROV, (2013) e ZHONG *et al.* (2014).

Nos ensaios, reatores de vidro de 100 ml, encamisados e conectados ao banho termostático (marca CIENLAB, modelo CE-160), para controle da temperatura do processo, foram empregados. Diferentes temperaturas de extração foram investigadas (25, 35 e 45°C). Para cada tipo de farelo estudado, a saber, polpa e amêndoa de macaúba e de amendoim, uma razão sólido:solução fixa de 1:50 (m:v) foi adicionada ao sistema.

As soluções aquosas utilizadas nas extrações continham diferentes concentração de NaCl, variando de 0 a 0,06 mol.dm⁻³, em intervalos de 0,02 mol.dm⁻³. O pH da solução salina foi ajustado na faixa entre 9 e 10, empregando-se solução de NaOH com concentração de 1 mol.dm⁻³, O pH do sistema foi monitorado com auxílio de um pHmetro (modelo PH S-38), de modo a mantê-lo constante durante o processo. É importante mencionar que apenas para os sistemas contendo 0 mol.dm⁻³ de NaCl, o estudo de variação de temperatura foi realizado. Para os demais sistemas, a temperatura de 25 °C foi empregada.

A seleção dos valores dos parâmetros fixos (sólido: solução, pH, agitação, tempo da reação) e da faixa de operação dos parâmetros variados (concentração de 0; 0,02; 0,04 e 0,06 mol.dm⁻³ e temperatura de 25, 35 e 45°C) dos parâmetros tiveram como base os resultados obtidos nos estudos de otimização dos parâmetros de processo, empregando-se o planejamento experimental.

Uma vez preparada a solução de extração, o farelo foi adicionado aos sistemas, na proporção mencionada, sendo mantidos sob agitação constante (200 a 250 rpm), utilizando-se um agitador magnético (marca Diag Tech, modelo DT311OH) (BOGDANOV & SVINYAROV, 2013; ZHONG *et al.*, 2014).

Assim que as fases farelo e solução entraram em contato, o cronometro foi acionado e amostras de solução foram periodicamente coletadas nos instantes de tempo de 0,5; 1; 2; 3; 5; 10; 20; 40; 70 e 100 minutos. É importante ressaltar, que o volume total máximo de amostras coletadas correspondeu a menos de 10% do total de solução utilizada nos experimentos, garantindo assim, a estabilidade do sistema.

As alíquotas coletadas foram acondicionadas em tubos eppendorf de 15 mL e levadas para centrifuga (marca Eppendorf, modelo 55430) para centrifugação a 7000 rpm por 20min. A fase sobrenadante foi então analisada quanto ao seu teor de proteínas, utilizando o método de micro-Kjeldahl, descrito no Capítulo 3. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

As análises de teor de proteínas nos extratos foram realizadas no laboratório de físico-química da Faculdade de Veterinária da UFMG e no Laboratório de Termodinâmica Aplicada à Processos do DEQ/EE/UFMG.

Através do rendimento de extração calculados de acordo com equação (2.3) conforme MACHADO *et al.* (2007), WU *et al.* (2009) descrito no capítulo 2 e representado pela equação 4.23 ao longo do processo de extração, nas diferentes condições investigadas para os diferentes farelos, foi possível obter as curvas cinéticas de extração de proteínas, dados estes que foram utilizados para o ajuste dos modelos cinéticos e termodinâmico propostos.

$$R \% = \frac{A (\%) \cdot m_a}{P (\%) \cdot m_p} \cdot 100 \quad \text{Equação 4.23}$$

4.2.2. Tratamento dos dados experimentais

Para a modelagem dos dados experimentais aos modelos cinéticos e termodinâmico propostos, os softwares Excel 2013 e Scilab 5.5.2 foram empregados.

É importante mencionar que todos os dados experimentais, assim como os modelos e seus parâmetros, levaram em consideração os valores de rendimento de extração (equação 4.23) segundo MACHADO *et al.* (2007), PLANCKEN *et al.*, (2006), WU *et al.* (2009) obtidos ao longo dos experimentos.

Os experimentos foram realizados em triplicata e os dados analisados através da análise de variância (ANOVA) ao nível de 95 % de confiança ou p-valor de 0,05. Os modelos cinética de dois estágios e de difusão foram ajustados com base no método de busca direta, também denominado método de otimização de Lavenberg-Marquardt, que usa o princípio de otimização por interações sucessivas empregando o método dos mínimos quadrados (CISSÉ, *et al.*, 2012; DAGOSTIN *et al.*, 2015). O modelo de segunda ordem empregou o software Excel 2013 para linearização das retas obtidas a partir dos dados experimentais.

Para avaliar os dados experimentais e os dados preditos pelos modelos, foi calculado e utilizado a raiz quadrada do erro quadrático médio ou RMSE (*Root-Mean-Square Error*), que avalia o erro entre os dados preditos pelo modelo e os dados experimentais (DAGOSTIN *et al.*, 2015; POOJARY & PASSIMONTI, 2015). Quanto menor for este parâmetro, maior é a precisão do modelo em prever o comportamento dos dados experimentais. A equação (4.24) abaixo apresenta o cálculo de RMSE.

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\text{Rexp} - \text{Rmod})^2} \quad \text{Equação 4.24}$$

Onde, o n é o número total de experimentos, Rexp é o valor de rendimento obtido experimentalmente e Rmod é o valor de rendimento obtido a partir do modelo.

Outro valor a ser considerado como avaliação dos ajustes é o coeficiente de determinação, R², usado para explicar o ajuste na regressão linear ou não linear. É uma medida da proporção do somatório da variância dos valores de uma grandeza obtida pelo modelo em relação ao somatório da variância dos dados experimentais da grandeza. Quanto mais próximo de 1, melhor o modelo pode explicar o

comportamento dos dados experimentais (BOCIK-KOJIC *et al.*, 2013; DAGOSTIN *et al.*, 2015; MILIK *et al.*, 2013; POOJARY & PASSAMONTI, 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

5.1. Dados cinéticos da extração de proteínas dos farelos de amendoim, de polpa e de amêndoa de macaúba

Os dados cinéticos da extração das proteínas para diferentes farelos em encontram-se nos Anexo C1 e C2 para diferentes concentrações do solvente e diferentes temperaturas respectivamente.

Nas Figuras 22 a 27 são apresentadas as curvas cinéticas experimentais do estudo de extração de proteínas, para os diferentes farelos, considerando a influencia no rendimento de extração para a variação da concentração de NaCl na solução de extração a 25 °C e para a variação da temperatura para os sistema sem adição de sal.

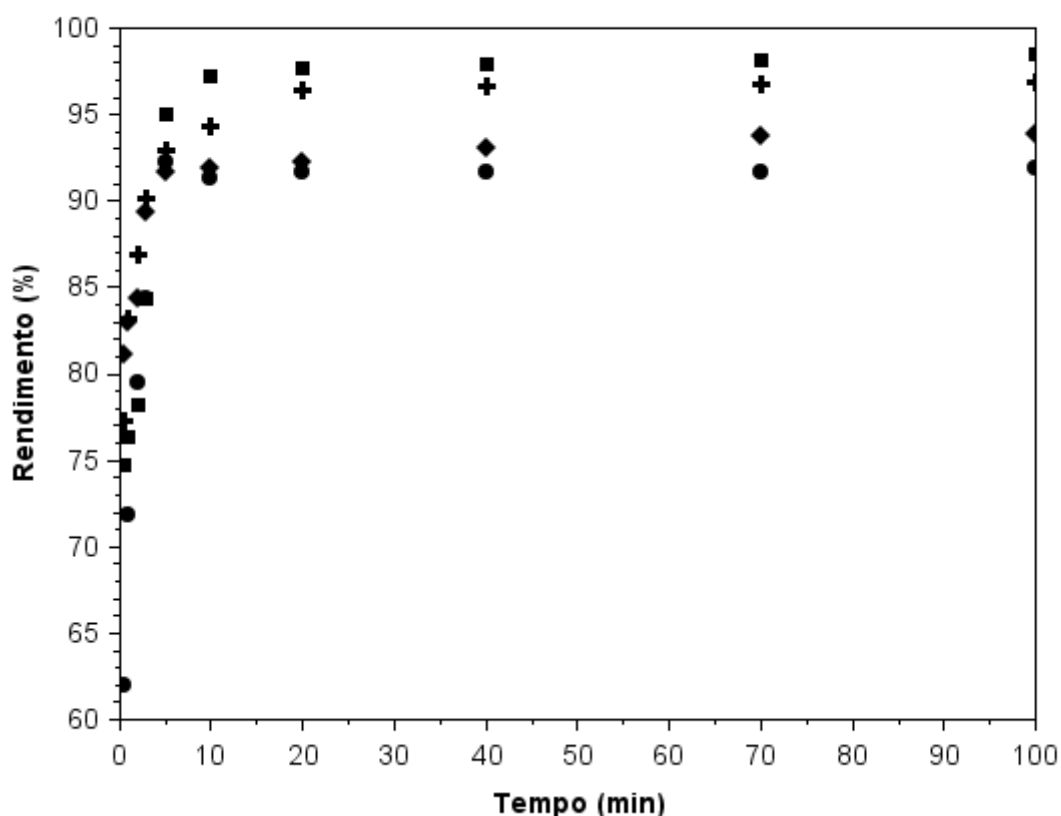


Figura 22- Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amendoim em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³.

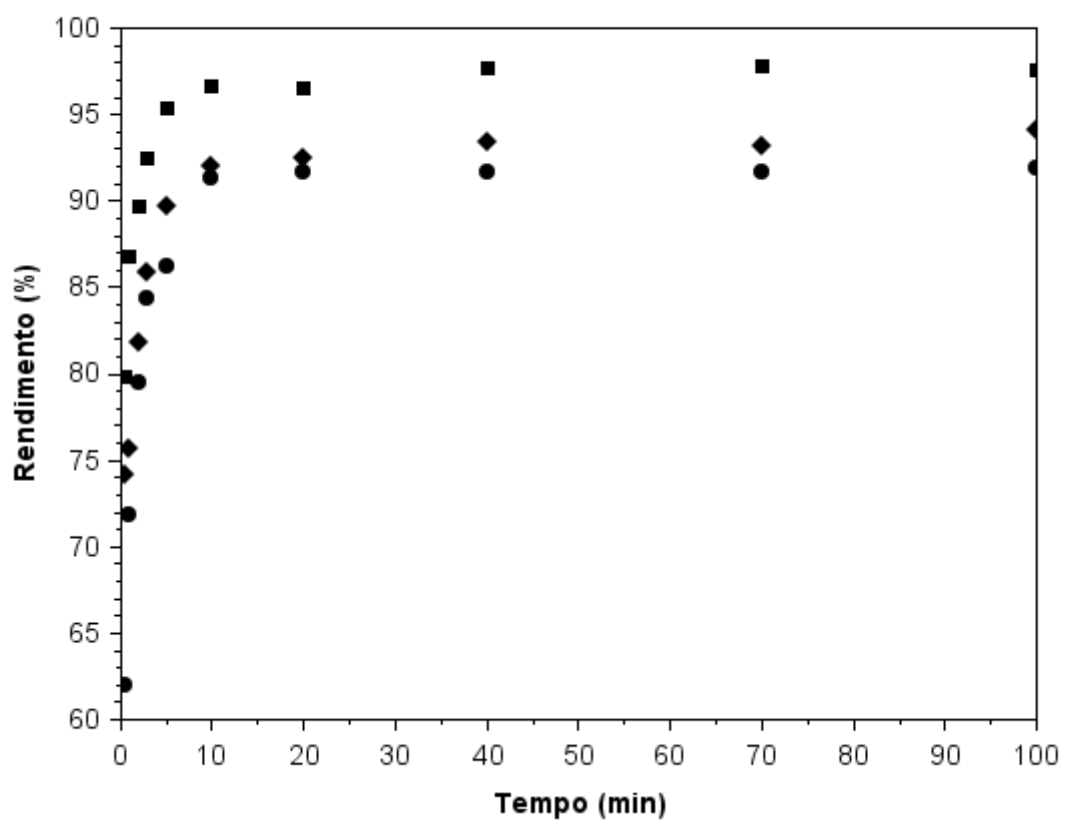


Figura 23-Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amendoim nas temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C

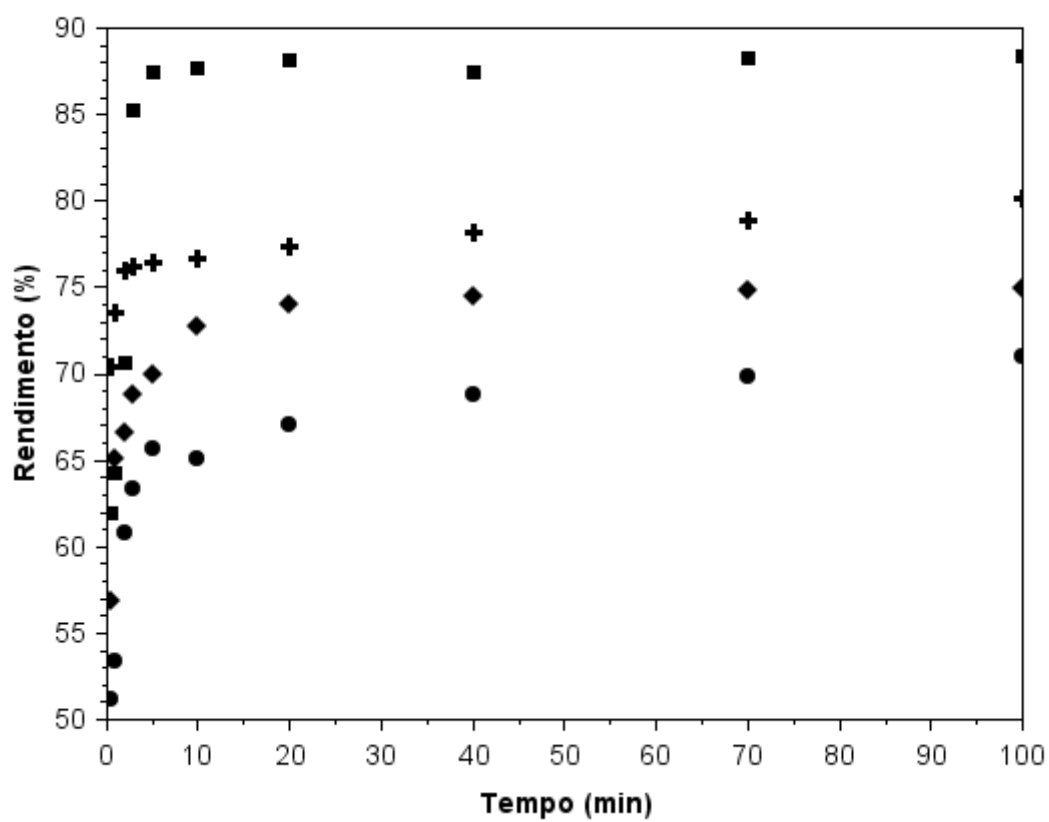


Figura 24- Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba nas concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³.

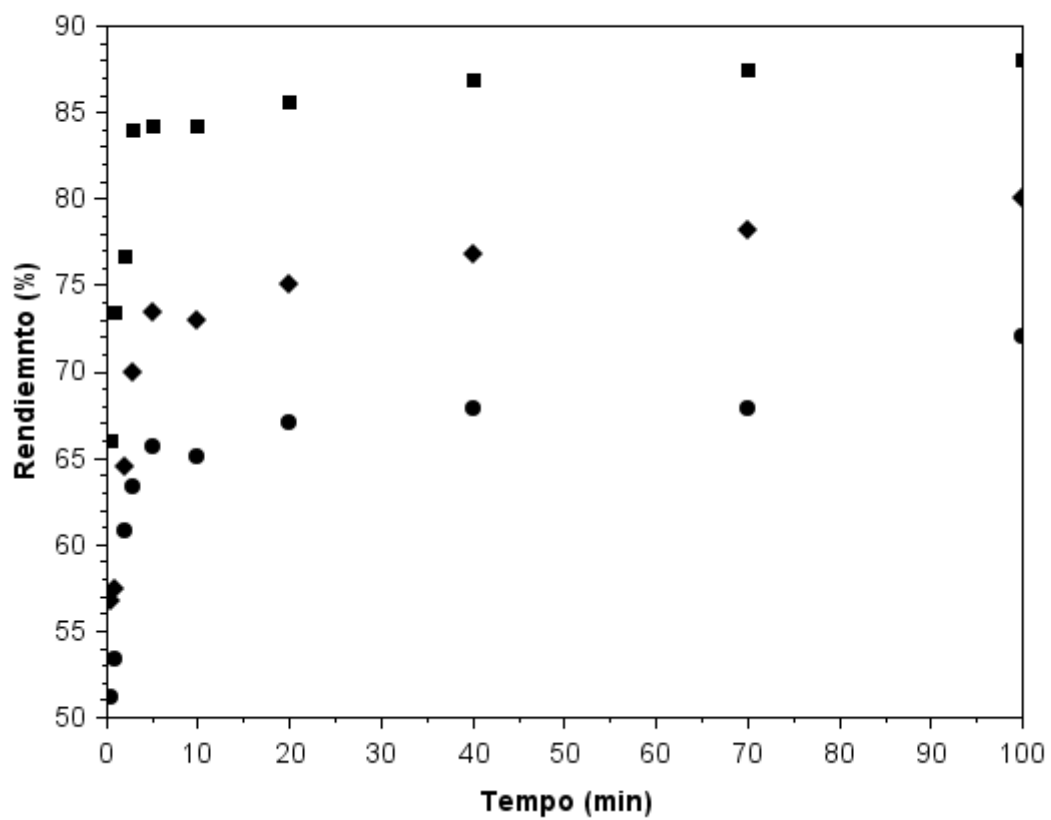


Figura 25-Curvas da cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba nas temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C

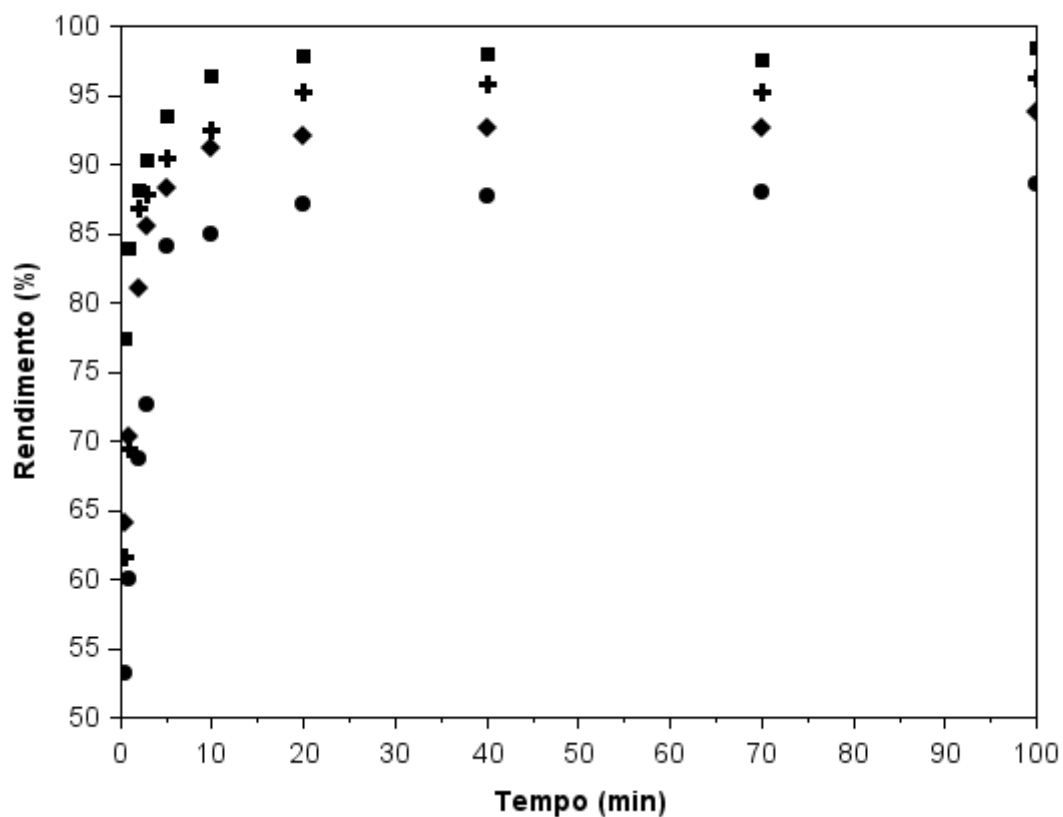


Figura 26- Curva cinética. Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo da polpa de macauba em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³ (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³.

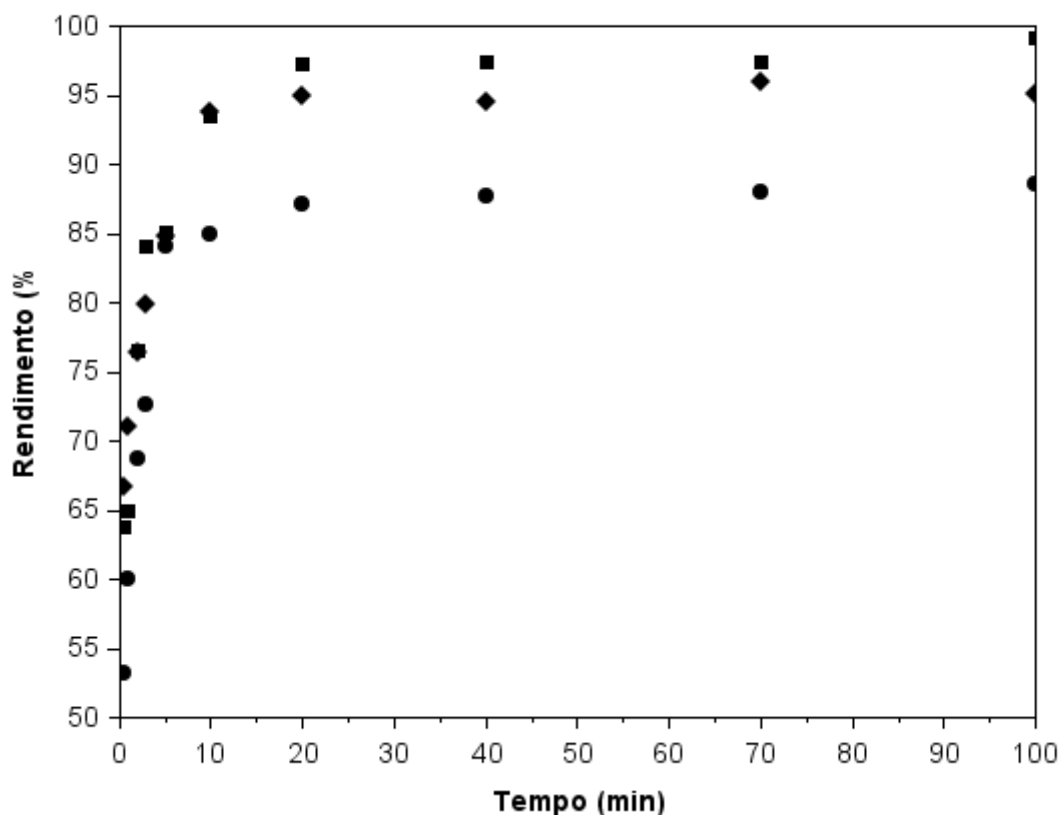


Figura 27- Dados experimentais para a extração de proteínas do farelo da polpa de macaúba em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C.

Como se pode observar nas Figuras 22 a 27 de um modo geral, no mínimo 69% das proteínas presentes nos farelos foram extraídas. A maior parte da extração aconteceu nos instantes iniciais entre 0,5 e 10 minutos, onde se extraiu no mínimo 65% das proteínas e no máximo 97%. Isso sugere que a etapa de lavagem realmente é muito rápida, se comparada à etapa de difusão, sendo a maior parte das proteínas extraídas na etapa de lavagem. Observa-se ainda, que a maior quantidade de proteína extraída foi obtida para o farelo de amendoim e farelo de polpa, com no mínimo 88% de extração, para o farelo da amêndoa, uma menor extração das proteínas foi observada, sendo atingido rendimento máximo próximo de 99%.

Logo, pode-se afirmar que nas condições estudadas, as proteínas dos farelos de amendoim e polpa são mais facilmente solubilizadas na solução de extração, que

as proteínas presentes no farelo de amêndoa. De um modo geral, os farelos da macaúba mostram-se como uma fonte alternativa de proteínas com grande potencial para exploração industrial, visto os rendimentos de extração obtidos.

Observando as Figuras 22, 24 e 26 nota-se que a presença de sal na solução de extração influenciou positivamente a extração de proteínas, para todos os casos. As máximas extrações foram obtidas na concentração de $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$, sendo alcançados teores de extração de até 98,48%, para o farelo de amendoim. O aumento da concentração de sal na solução de extração aumentou em até 23% a extração de proteínas no farelo de amêndoa. Este comportamento reforça mais uma vez a importância de se controlar as características químicas do meio de extração, pois as mesmas exercem influência no processo de extração sólido-líquido.

Outro fator a ser observado é com relação à composição dos farelos e o rendimento das extrações de proteínas em diferentes concentrações salinas. Apesar dos farelos serem obtidos de fontes oleaginosas, o amendoim classifica-se como uma leguminosa oleaginosa e a polpa e a amêndoa de macaúba como partes de um fruto oleaginoso. Contudo, no capítulo 2 pode ser visto que a composição dos farelos de amendoim e amêndoa é semelhante, contendo proteínas, carboidratos e fibras, em teores decrescentes nesta ordem, no entanto, o farelo de polpa apresentou-se com uma composição muito distinta dos demais farelos, com teores maiores de fibras e carboidratos do que o de proteínas.

Apesar disso, os farelos de polpa e amendoim, foram os que apresentaram comportamento de extração semelhante nas diferentes soluções salinas. Neste sentido, pode-se afirmar que a composição centesimal dos farelos não exerceu influência para a extração de proteínas das diferentes matrizes, no entanto, a composição proteica dos farelos provavelmente influenciou nos comportamentos observados para a cinética de extração de proteínas, dos diferentes farelos, em concentrações salinas diferentes. Porém, de um modo geral, pode-se dizer que a adição de NaCl em concentrações de até $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$ favoreceu o processo de extração de proteínas, principalmente do farelo de amêndoa.

Avaliando os resultados apresentados nas Figuras 23, 25 e 27 constata-se que a temperatura apresentou impacto positivo na extração das proteínas para todos

os farelos. Conforme esperado, a temperatura aumenta a energia das moléculas, aumentando a difusão das mesmas, facilitando assim, a transferência de massa da matriz para a solução. Além disso, o aumento da temperatura também influencia em propriedades físico-químicas da solução de extração, como viscosidade e densidade, logo, o aumento da temperatura de extração pode contribuir para a maior solubilização das proteínas na solução de extração, se isso ocorre, a solubilização das proteínas na solução ocorre com absorção de calor.

Nota-se nas Figuras 23, 25 e 27, que a máxima extração foi obtida para o farelo da polpa (99,20%) na temperatura de 45 °C. A menor extração de proteínas foi obtida para o farelo da amêndoa, sendo extraído no máximo 88,04% de proteínas na temperatura de 45 °C. Contudo, na temperatura de 45 °C verificou-se que nos primeiros 5 minutos de processo, cerca de 84% das proteínas foram extraídas, considerando todos os farelos. O aumento da temperatura gerou, no mínimo, um aumento de 6% no rendimento de extração de proteínas. Desta forma, pode-se dizer que a temperatura é um parâmetro de operação que exerce influência na capacidade de extração de proteínas de matrizes vegetais (CHAN *et al.*, 2014; DAGOSTIN *et al.*, 2015; WU *et al.*, 2009).

ZHONG *et al.*(2014) realizaram a extração de proteínas a partir das sementes da leguminosa *caragana*, variando a temperatura de 20 a 40 °C, em solução aquosa alcalina de concentração de 0,06 mol.dm⁻³ de NaOH, tendo observado um aumento do rendimento do processo de 21,3 a 40,90% com aumento da temperatura. Contudo, os autores alertam que acima de 45 °C, as proteínas podem sofrer desnaturação, com consequências sobre a redução da solubilidade e do rendimento.

5.2. Modelagem dos dados experimentais cinéticos utilizando o Modelo Cinético de Dois Estágios (*Two site Kinetic Model*)

O modelo matemático proposto por SO & MACDONALD (1986) descreve o processo da extração sólido-líquido através de dois mecanismos consecutivos, o de lavagem e o de difusão, considerados relevantes quando biocomponentes são extraídos a partir de matrizes vegetais, onde o transporte através da parede celular pode exercer papel importante na transferência de massa do processo.

Os parâmetros do modelo ajustado foram: R_1 , R_2 , k_1 e k_2 que representam respectivamente, o rendimento de proteína extraída no estágio de lavagem (%), rendimento de proteína extraída no estágio de difusão (%), coeficiente de transferência de massa na etapa de lavagem (min^{-1}) e coeficiente de transferência de massa na etapa de difusão (min^{-1}). Outro parâmetro importante determinado a partir dos parâmetros obtidos do modelo é o valor de R_e (%), que representa o rendimento total de proteína extraída nos dois estágios, podendo representar também a extração máxima no equilíbrio, ou seja, a soma de R_1 e R_2 . A rotina do SCILAB 5.5.2 usada para determinação dos parâmetros do modelo encontra-se no Anexo D1.

5.2.1 Farelo de Amendoim

A Tabela 27 apresenta os parâmetros do modelo de dois estágios, assim como os parâmetros de avaliação da falta de ajuste, obtidos a partir do modelamento aos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de amendoim, variando-se a temperatura de extração e teor ou concentração de sal na solução de extração.

A avaliação da qualidade do ajuste ou performance do modelo foi realizada através do parâmetro coeficiente de determinação (R^2) em conjunto com a raiz quadrada do desvio quadrático médio (RMSD), também denominado raiz quadrada do erro quadrático médio (RMSE).

Tabela 27 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de dois estágios em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para o farelo de amendoim.

Condições Experimentais	Parâmetros do Modelo						R^2	RMSE
	R_1 (%)	k_1 (min^{-1})	R_2 (%)	k_2 (min^{-1})	R_e (%)			
Concentração NaCl (mol.dm^{-3})	0,00	55,93	6,04	35,96	0,564	91,88	0,9918	0,2626
	0,02	74,84	10,06	18,22	0,454	93,06	0,9728	0,2013
	0,04	79,73	5,63	16,32	0,292	96,05	0,9936	0,2225
	0,06	65,73	16,77	32,59	0,32	98,32	0,9761	0,1021
Temperatura, ($^{\circ}\text{C}$)	25	55,93	6,04	35,96	0,564	91,89	0,9918	0,2626
	35	68,62	5,60	24,95	0,398	93,57	0,9869	0,2246
	45	81,66	5,75	15,29	0,408	96,95	0,9948	0,3967

De um modo geral, pode-se dizer que os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo cinético de dois estágios, uma vez que o R^2 para todos os casos foi maior que 97%, ou seja, mais de 97% dos dados experimentais pode ser explicado pelo modelo. Os valores de RMSE também refletem um bom ajuste, pois os desvios são baixos, menores que 0,4. Na literatura encontra-se para este modelo valores de RMSE na faixa de 0,010 até 0,894 e R^2 de 0,9074 até 1,0 (DAGOSTIN *et al.*, 2015; KOSTIC *et al.*, 2014; ZHONG *et al.*, 2014).

Outra observação feita nos dados apresentados na Tabela 27 é que o rendimento de proteína extraída na fase de lavagem é até 5,3 vezes maior que o rendimento de extração na fase de difusão. Assim como os coeficientes de transferência de massa, que chegaram a ser 52 vezes maior para a etapa de lavagem em comparação a de difusão, demonstrando que a maior parte das proteínas é rapidamente extraída na fase inicial do processo, etapa de lavagem.

De um modo geral, avaliando os valores de Re , nota-se que o efeito no aumento do rendimento total de extração foi maior quando se aumentou o teor salino da solução (aumento de 7%), do que quando a temperatura de extração foi aumentada (aumento de 5,5%).

Influência da concentração de NaCl

Considerando os dados experimentais onde a variação da concentração salina na solução foi investigada, nota-se na Tabela 27 que o valor do parâmetro Re , rendimento total de extração, só aumentou com o aumento da concentração de NaCl na solução de extração, atingindo valor máximo de 98%.

No entanto, observando os parâmetros que representam a extração de proteínas nos dois estágios de transferência de massa, lavagem e difusão, percebe-se que o estágio de lavagem contribui com a maior parte da extração de proteínas, no mínimo 55% mais que a etapa de difusão, para todas as concentrações salinas investigadas, sendo a fase de difusão responsável pela extração de no máximo 36% das proteínas da matriz sólida.

No trabalho de ZHONG *et al.* (2014), foi observado comportamento semelhante para a extração de proteínas da semente de *Caragana*, a etapa de lavagem extrai até 62% de toda a proteína extraída até o equilíbrio do processo.

Com relação aos coeficientes de transferência de massa, pode-se observar na Tabela 27 que a etapa de lavagem ocorre mais rapidamente que a etapa de difusão, para todas as concentrações salinas investigadas. Os valores de k_1 são pelo menos 10 vezes maiores que os valores determinados para k_2 , refletindo a maior rapidez da transferência de massa na etapa de lavagem do que na etapa de difusão. Maiores valores para k_1 são esperados, pois, inicialmente, quando a matriz possui maior teor de proteínas e mais disponível ao entrar em contato com a solução de extração, uma maior força motriz entre as fases permite a remoção mais fácil e rápida das proteínas contidas superficialmente na fase sólida.

Ainda em relação aos coeficientes de transferência de massa, nota-se que o coeficiente da etapa de difusão continuamente decresce com o aumento da concentração salina, no entanto, o valor do coeficiente k_1 oscila para as diferentes concentrações de sal investigadas, atingindo o maior valor de 16,77 (min^{-1}) na maior concentração de sal ($0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$). Ou seja, o aumento da concentração salina melhora a transferência de massa na fase de lavagem como verificado nos trabalhos de ABDULLAH & KOC (2013) e ARMANI & KADI (2010).

Contudo, nota-se ainda que nas concentrações das soluções salinas de $0,02 \text{ mol.dm}^{-3}$ e $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$, os rendimentos de extração na fase de lavagem foram os maiores, com valor médio de 79% de extração, mesmo os coeficiente de transferência de massa na fase de lavagem, para estas concentrações salinas, apresentarem valores entre 5,63 e 16,77 (min^{-1}).

Sabe-se que a presença de sal na solução de extração modifica a força iônica da solução, influenciando assim nas camadas de cargas superficiais das proteínas. Logo, dependendo da concentração de sal em solução, as proteínas podem facilmente se solubilizar no meio líquido, através do fenômeno de *salting-in*, quando a solubilidade das proteínas é aumentada devido a camada iônica que se forma na superfície da molécula, diminuindo a interação entre as proteínas, mantendo-as solvatadas. Desta forma, seria esperado que para o maior coeficiente de

transferência de massa (k_1), maior rendimento de extração na fase lavagem também fosse obtido (R_1), o que não ocorreu, apesar de Re ser máximo (98,32%) nesta condição de extração ($0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$).

Diante disso, é importante lembrar que outros parâmetros de processo também podem influenciar a cinética de extração, como o grau de agitação do sistema e a distribuição do tamanho de partícula da fase sólida (CHAN *et al.*, 2014, DAGOSTIN *et al.*, 2015; KÓSTIC *et al.*, 2015).

A oscilação observada para os valores dos coeficientes de transferência de massa na etapa de lavagem pode estar relacionada, principalmente, com a oscilação da agitação do sistema, pois este controle influencia diretamente na transferência de massa convectiva da interface sólido-líquido. Uma menor agitação do sistema reflete em maior resistência a transferência de massa na fase líquida e conseqüentemente diminuição da velocidade de extração, resultando em um menor coeficiente de transferência de massa (CHAN *et al.*, 2014; FRANCO *et al.*, 2007).

De um modo geral, pode-se dizer que a presença de sal na solução de extração, considerando as concentrações investigadas, auxilia no processo de extração de proteínas de farelo de amendoim, sendo a fase de lavagem a que mais contribui para o processo de extração.

Na literatura não foram encontrados outros trabalhos similares, além do apresentado por ZHONG *et al.* (2014), que trata da extração de proteínas de Caragana, que obteve para modelo de dois estágios os parâmetros C_1 e C_2 que variaram de 20,75 a 23,45 mg.g^{-1} e 8,72 a 13,93 mg.g^{-1} , respectivamente, nas diferentes concentrações de NaOH e nas temperaturas entre 20 a 40 °C. Este fato reforça a relevância do estudo apresentado no presente trabalho, pois mesmo para o farelo de amendoim, uma matéria prima amplamente utilizada como fonte de proteínas, não foram encontrados estudo cinético de modelamento do processo de extração na literatura.

Na Figura 28, são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas de farelo de amendoim em soluções salinas de diferentes concentrações.

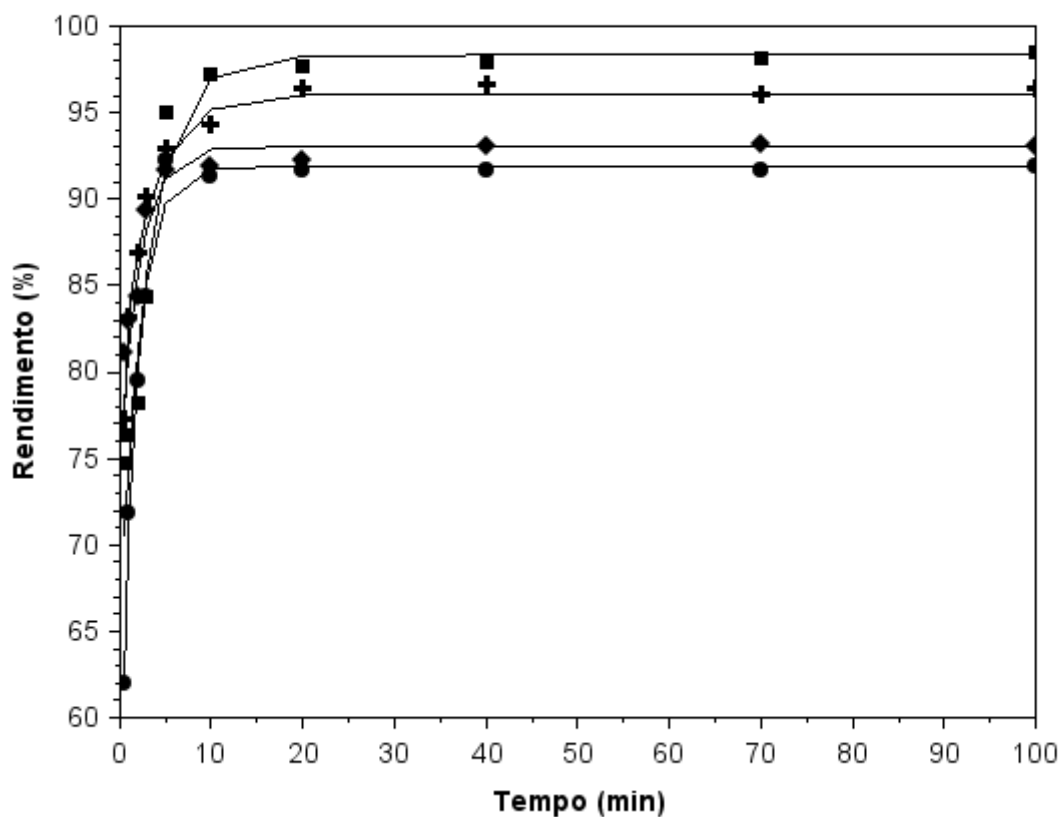


Figura 28- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—).

Observando as curvas da Figura 28 percebe-se que de um modo geral O processo de extração ocorreu rapidamente, ou seja, em menos de 20 minutos mais de 90 % das proteínas foram extraídas, corroborando os parâmetros cinéticos obtidos do modelo, onde a etapa de lavagem, mais rápida, é a que principalmente contribui para o processo de extração. As concentrações de sal de 0,04 e 0,06 mol.dm⁻³ são as que mais favoreceram o processo de extração, sendo obtidos rendimentos acima de 95% em 15 minutos de extração.

Para todas as concentrações salinas a fase de lavagem ocorreu muito rapidamente, em menos de 5 minutos de processo, demonstrando que a transferência de massa nesta etapa foi muito rápida e eficiente, pois removeu a

maior parte das proteínas da matriz sólida. Sendo o processo nesta etapa muito rápido, a descrição do processo de extração pelo coeficiente de transferência de massa (k_1), ajustado no modelo, pode ter sido comprometida, o que também explica a oscilação destes valores, conforme nota-se na Tabela 27.

Contudo, os dados da Figura 28 também refletem o bom ajuste do modelo de dois estágios aos dados experimentais em diferentes concentrações salinas da solução de extração, confirmado pelos valores de R^2 e RMSE apresentados anteriormente, podendo o processo de extração de proteínas do farelo de amendoim ser representado e predito pelo mecanismo proposto por este modelo.

De acordo com MOUBARAK *et al.* (2011), KARABEY *et al.* (2013), KÓSTIC *et al.* (2009), MEZIANE *et al.* (2006) e ZHONG *et al.* (2014) o modelo cinético de dois estágios também foi adequado para descrever o comportamento da extração de óleos vegetais, compostos antioxidantes e proteínas a partir de matrizes vegetais.

Influência da Temperatura

Os parâmetros cinéticos do modelo de dois estágios para a influência da temperatura no processo de extração de proteínas do farelo de amendoim foram apresentados na Tabela 27. O parâmetro Re (% m/m) demonstrou uma tendência de aumento da extração com o aumento da temperatura, sendo obtidos valores de até 97% de extração, na maior temperatura de 45 °C.

De acordo com ZHONG *et al.* (2014) e QU *et al.* (2010), na extração sólido-líquido de proteínas, o aumento da temperatura de processo até 45°C reduz a tensão superficial e a constante dielétrica do meio, aumentando a energia interna do sistema e portanto, facilitando a solubilidade e transferência de massa do componente da matriz sólida para a fase líquida.

Entretanto, CHAN *et al.* (2014), afirmaram que se deve sempre avaliar as temperaturas a serem empregadas nos processos de extração em relação a estabilidade do componente a ser extraído, pois muitas biomoléculas são termo sensíveis e o uso de temperaturas muito acima da ambiente durante a extração, não necessariamente é uma vantagem.

No caso das proteínas, a temperatura ideal de extração se situa abaixo de 50 °C, e o aumento da temperatura acima deste valor tem impacto direto na redução do rendimento do processo de extração da maioria dos compostos bioativos, como os antioxidantes e proteínas, devido ao fenômeno de diminuição da solubilidade pela desnaturação ou degradação das moléculas (BUCIK-KOJIC *et al.*, 2007; BUCIK-KOJIC *et al.*, 2013; DAMODARAN *et al.*, 2010; GOULA, 2013; ISLAM *et al.*, 2013; SULAIMAN *et al.*, 2013).

Nota-se ainda na Tabela 27 que o rendimento de extração na fase de lavagem (R1), aumenta até 46% com o aumento da temperatura entre 25 e 45 °C, atingindo valor mínimo de 56%. Isso demonstra que mais de 56% das proteínas são extraídas na fase de lavagem, e que o aumento da temperatura auxilia este processo. Contudo, o rendimento de extração na fase difusão (R2) diminuiu com o aumento da temperatura, sendo o valor máximo obtido foi de 36%, para a menor temperatura estudada (25°C). Conforme anteriormente mencionado, este comportamento pode ser explicado pelo efeito favorável do aumento da temperatura no processo de transferência de massa durante a fase de lavagem, onde o aumento de temperatura facilita a solubilidade e a transferência do soluto da fase sólida para a solução. Logo, se maior parte da proteína foi extraída na fase de lavagem, logicamente, restou menos proteína que foi extraída na fase de difusão (ABDULLAH e KOC, 2013).

Analisando os coeficientes de transferência de massa nas duas etapas de extração, k_1 e k_2 , os valores de k_1 foram no mínimo 11 vezes maiores que os obtidos para k_2 , mais uma vez reforçando que a fase de lavagem ocorreu mais rapidamente que a fase de difusão durante a extração, mesmo porque a força motriz na etapa de lavagem é maior que a da fase de difusão, logo, na etapa de difusão a transferência de massa é mais lenta.

Contudo, os valores de k_1 e k_2 não se modificaram muito com a variação da temperatura, sendo k_1 em torno de 5,79 (min^{-1}) e k_2 de 0,434 (min^{-1}), porém, notou-se que a relação entre k_1 e k_2 aumentou com o aumento da temperatura, o que demonstra que o aumento da temperatura melhorou a transferência de massa na

fase lavagem quando comparada com a etapa de difusão (ABDULLAH & KOC, 2013).

Na Figura 29 são apresentadas as curvas cinéticas experimentais e modeladas pelo modelo de dois estágios em diferentes temperaturas de processo para a extração de proteínas do farelo de amendoim.

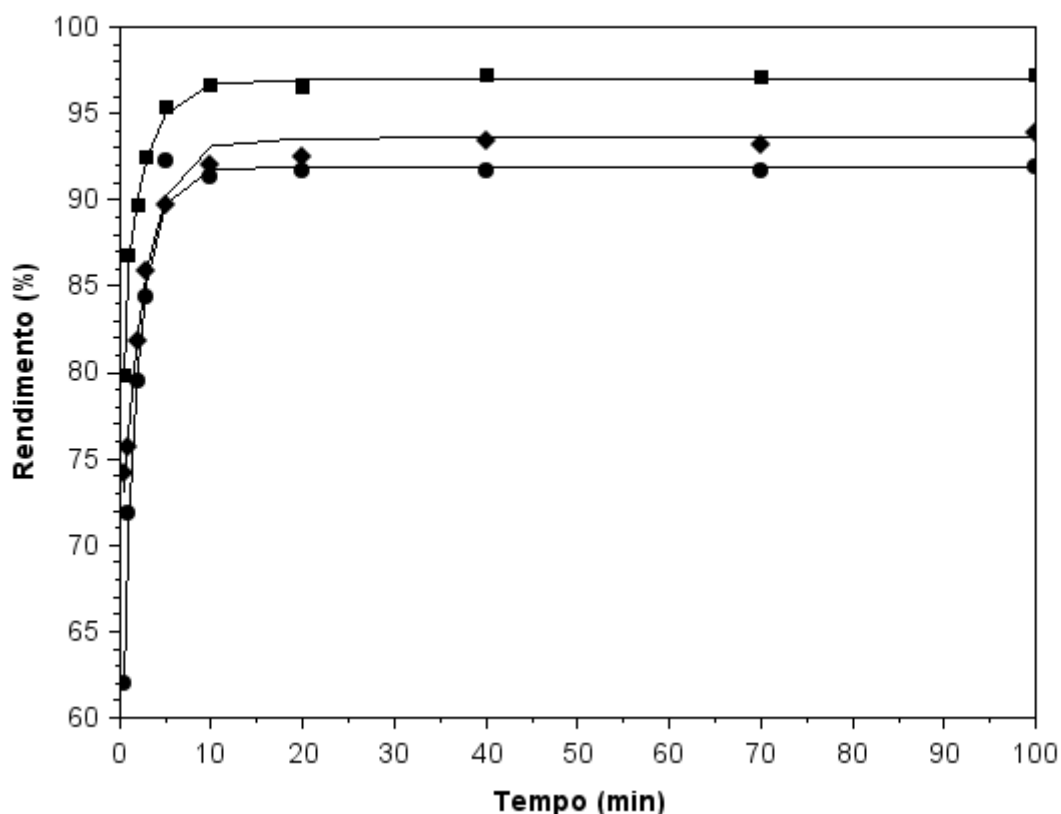


Figura 29- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—).

Na Figura 29 nota-se claramente que a temperatura de 45°C foi favorável para o aumento do rendimento de extração de proteínas. Para esta temperatura, em menos de 10 minutos de processo mais de 95% das proteínas foram extraídas.

Nota-se mais uma vez, que a etapa de lavagem foi um processo rápido, ou seja, em 10 minutos, mais de 90% da proteína foi extraída, sendo a fase de lavagem

a que mais contribui para o rendimento de extração. O fato de o processo ocorrer rapidamente e a fase de lavagem contribuir para grande parte do processo de extração, pode estar relacionada com o grau de agitação do sistema de extração, além do tamanho de partícula da matriz sólida, que para o caso do amendoim foi de 0,387 mm de diâmetro, tamanho que pode ser considerado favorável para o processo de extração sólido-líquido, sendo reportado na literatura que tamanho de partícula inferior a 0,5 mm é indicado para alcance de rendimentos de extração consideravelmente maiores (CHAN *et al.*, 2014; KOSTIC *et al.*, 2015; ZHONG *et al.*, 2014).

Mais uma vez, nota-se nas curvas da Figura 29 que a etapa de lavagem ocorre em menos de 5 minutos de processo, o que pode ter comprometido o modelamento do parâmetro k_1 , referente ao coeficiente de transferência de massa nesta etapa do processo.

Contudo, nota-se na Figura 29 que os ajustes do modelo de dois estágios aos dados experimentais representam muito bem o comportamento dos dados, refletindo que para a variação de temperatura no processo de extração de proteínas do farelo de amendoim, o modelo de dois estágios representa bem o mecanismo do processo.

De um modo geral, pode-se dizer que o aumento da temperatura em até 45°C e o emprego de concentrações salinas entre 0,02 e 0,04 mol.dm⁻³ favoreceram a extração de proteínas de farelos de amendoim, principalmente durante a etapa de lavagem onde o processo foi mais eficiente e rápido, com rendimento de até 81%, em menos de 5 minutos de processo, nas condições mencionadas.

5.2.2 Farelo de Amêndoa de Macaúba

A Tabela 28 apresenta os parâmetros do modelo de dois estágios, assim como os parâmetros de avaliação do desempenho do ajuste do modelo para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba, em concentrações de sal e temperatura diferentes na extração.

Tabela 28 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de dois estágios em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para o farelo de amêndoa de macaúba

Condições experimentais		Parâmetros do modelo						
		R1 (%)	k1 (min ⁻¹)	R2 (%)	k2 (min ⁻¹)	Re (%)	R ²	RMSE
Concentração NaCl (mol.dm ⁻³)	0,00	54,55	9,78	13,13	0,342	66,80	0,9881	0,1132
	0,02	64,31	4,10	10,36	0,162	69,06	0,9972	0,0671
	0,04	71,44	6,80	6,76	0,433	78,20	0,9464	0,0831
	0,06	71,00	8,37	17,04	0,129	88,13	0,9468	0,1529
Temperatura (°C)	25	54,55	9,78	13,13	0,342	68,80	0,9294	0,1132
	35	61,04	7,31	16,41	0,151	76,94	0,9464	0,1506
	45	63,83	6,13	22,65	0,521	86,48	0,9630	0,1149

De um modo geral, pode-se afirmar que o modelo cinético de dois estágios se ajustou bem aos dados experimentais, uma vez que os valores R², para todos os casos, foram maiores que 93%, ou seja, pelo menos 93% dos dados experimentais puderam ser explicados pelo modelo. Os valores de RMSE também refletem um bom ajuste, pois os desvios apresentaram valores abaixo de 15%. Na comparação com os valores obtidos para o farelo de amendoim e apresentados na literatura quando o modelo de dois estagio foi empregado, foram encontrados os valores de R² na faixa de 0,9074 a 1,000 e RMSE de 0,010 a 0,894. Com base nesta comparação pode-se considerar que o ajuste do modelo aos dados de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba foi satisfatório (DAGOSTIN *et al* 2015; POOJARY & PASSAMONT, 2015; ZHONG *et al*, 2014).

Na Tabela 28 pode-se notar ainda, que o aumento da concentração salina influenciou significativamente para o aumento do rendimento de extração na fase de lavagem (R1), com o aumento de até 32% no rendimento, do que o aumento da temperatura, que aumento até 17% no rendimento.

Contudo, nota-se que tanto o aumento da temperatura, quanto o da concentração salina, influencia positivamente no aumento do rendimento total de extração (Re), sendo obtido valor de até 88%. A explicação para este fenômeno pode estar ligada com a facilidade de lavagem do soluto da matriz sólida, por um lado favorecida pela diferença de concentração entre as fases, e por outro, a facilidade de difusão e dissolução favorecida pela temperatura.

Com relação ao rendimento de extração na etapa de difusão, nota-se que a variação de temperatura influencia positivamente no rendimento de extração desta etapa, pois a difusão é fortemente influenciada pela temperatura, interferindo na viscosidade da solução e energia cinética das partículas.

De um modo geral, nota-se que a etapa de lavagem contribui mais significativamente para a extração das proteínas que a etapa de difusão, sendo observado um rendimento até 10 vezes maior para a etapa de lavagem que para a etapa de difusão.

Corroborando este comportamento, nota-se que os coeficientes de transferência de massa na etapa de lavagem são até 65 vezes maior que os coeficientes da etapa de difusão, logo a etapa de lavagem mostra-se mais rápida que a etapa de difusão durante a extração de proteínas.

Influência da Concentração de NaCl

Como se pode observar na Tabela 28, o aumento da concentração salina aumenta o rendimento de extração total (Re) em até 32%, considerando a faixa investigada. O efeito no rendimento de extração na fase de lavagem também é crescente com o aumento da concentração salina, sendo observada pouca alteração no rendimento nas concentrações de 0,04 e 0,06 mol.dm⁻³, indicando que o aumento da concentração salina facilita a solubilidade do soluto na solução, e por consequência a extração das proteínas, conforme mostrado no capítulo 2. Contudo, o mesmo não pode ser dito para o rendimento na etapa de difusão, onde os maiores rendimentos foram registrados para a concentração mínima e máxima de sal.

Os parâmetros de transferência de massa, k_1 e k_2 , mostraram que apesar da transferência de massa na fase lavagem, ter sido mais rápida, até 65 vezes maior que a da etapa de difusão, a mais lenta, o maior rendimento foi obtido na fase lavagem que na de difusão, uma influência não muito definida foi observada com relação à variação da concentração salina. Os dados de rendimento e de transferência de massa foram variáveis em cada etapa da extração em concentrações salinas diferentes, o que pode ser indicador de uma característica do farelo de amêndoa que apresentou uma composição em proteínas não muito

homogênea com relação aos tipos de proteínas, o que pode favorecer em determinada condição de extração a remoção preferencial de um tipo de proteína em detrimento de outro.

Contudo, comparado aos parâmetros obtidos para a extração de proteínas do farelo de amendoim, em mesmas condições, a ordem de grandeza para k_1 e k_2 mostra-se semelhante, demonstrando que o processo de transferência de massa na extração de proteínas para ambas as matrizes é semelhante, quando a concentração de sal na solução de extração é variada entre 0 e $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$, mesmo o efeito no rendimento total mostrar-se diferente para as diferentes matrizes e concentrações salinas.

Na Figura 30 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba em soluções salinas de diferentes concentrações.

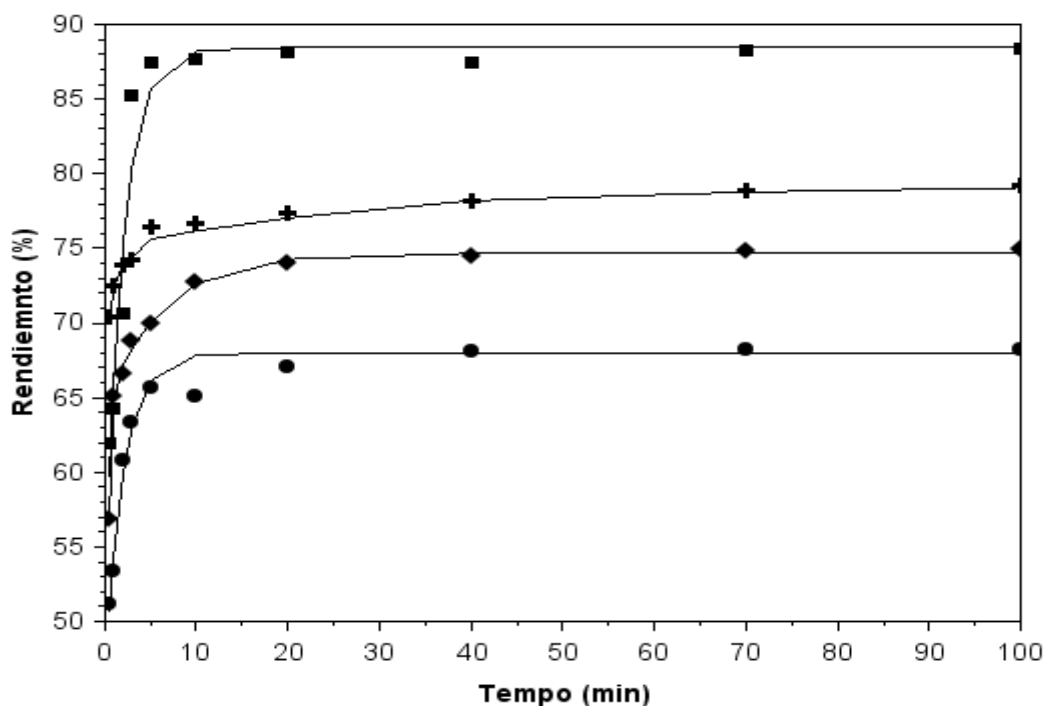


Figura 30- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—).

Diferentemente ao observado para o farelo de amendoim, a concentração de sal na solução de extração influenciou fortemente no rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Conforme observado na Figura 30, a partir da concentração salina de 0,04 mol.dm⁻³, o rendimento de extração aumenta consideravelmente nos primeiros minutos do processo. Este comportamento sugere que o perfil proteico das matrizes pode ser diferente, demonstrando a importância da composição e do tipo de matriz no delineamento do processo de extração.

Nota-se para todos os casos, que a partir de 10 minutos, praticamente a maior parte das proteínas foram extraídas, demonstrando que a etapa de lavagem foi rápida, refletindo nos valores dos parâmetros k_1 maiores que k_2 . No entanto, nota-se na Figura 30 que a etapa de lavagem ocorreu em menos de 5 minutos de

processo, para todos os casos, e por ser um processo tão rápido, o modelamento e descrição desta etapa do processo pode ser comprometida, por isso, provavelmente observa-se a oscilação nas diferentes concentrações salinas do parâmetro k_1 .

Contudo, o modelo proposto ajusta bem os dados experimentais, e que a concentração salina entre 0,04 e 0,06 mol.dm⁻³ aumenta o rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba.

Apesar de estudo envolvendo a extração de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba não ser reportado, o modelo cinético de dois estagios mostrou-se como um bom modelo para descrever o mecanismo de extração de proteínas desta matriz, assim como foi observado para o amendoim e outros biocomponentes de diferentes matrizes vegetais em outros trabalhos da literatura (ZHONG *et al.*, 2014; KOSTIC´ *et al.*, 2015).

Influência da Temperatura

Segundo a Tabela 28, nota-se que o aumento da temperatura aumentou o rendimento total de extração (R_e) em até 27%. O mesmo comportamento foi observado para o rendimento na fase de lavagem e fase de difusão, ou seja, o aumento da temperatura aumenta a solubilidade das proteínas na solução de extração (ZHONG *et al.*, 2014), logo a solubilização das proteínas na solução salina parece ser um processo endotérmico.

Sabe-se de um modo geral, que o aumento da temperatura é responsável pela diminuição da viscosidade da solução, facilitando a solubilidade e mobilidade do soluto para o solvente (ZNHONG *et al.*, 2014; CHAN *et al.*, 2014).

Contudo, apesar de o coeficiente de transferência de massa na etapa de lavagem ser até 48 vezes maior que o coeficiente na etapa de difusão, demonstrando que a etapa de lavagem é mais rápida que a de difusão, em diferentes temperaturas de extração, nota-se que o coeficiente k_1 decresce com o aumento da temperatura, como pode ser observado na Tabela 28, este parâmetro pode também ter sido influenciado por outras flutuações do sistema, como a agitação (ARMANI & KADI, 2010).

Além disso, como foi observado para a cinética apresentada para a extração de proteínas do farelo de amendoim, pelo fato da etapa de lavagem ser muito rápida, o modelamento dos dados experimentais nesta etapa pode ser dificultada, refletindo principalmente no ajuste do parâmetro de transferência de massa (k_1).

No entanto, comparado aos parâmetros obtidos para a extração de proteínas do farelo de amendoim, mesma ordem de grandeza foi observada, demonstrando que o mecanismo de transferência de massa foi semelhante para ambas as matrizes quando a temperatura foi variada entre 25 e 45 °C.

Na Figura 31, são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba em diferentes temperaturas.

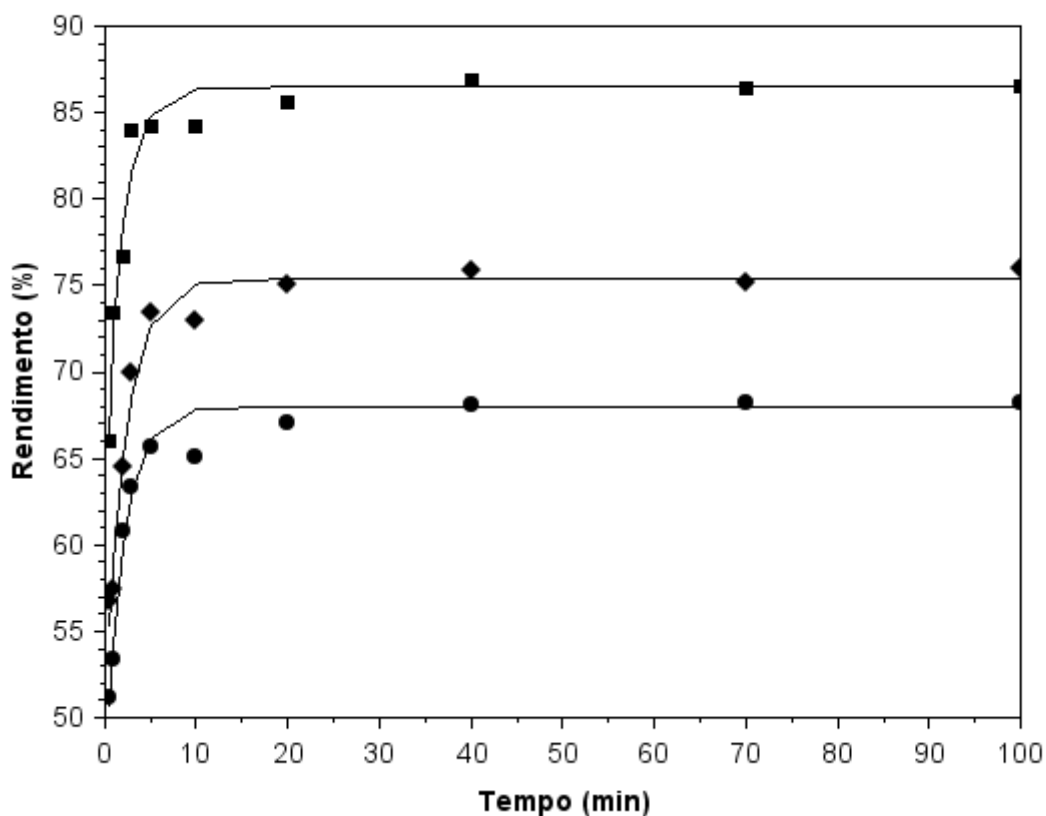


Figura 31- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—).

Diferentemente ao observado para o farelo de amendoim, a temperatura influencia fortemente o rendimento de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Conforme mencionado anteriormente, o rendimento de extração é cada vez maior quanto maior for a temperatura de extração, o que pode ser claramente notado na Figura 31, nos 10 primeiros minutos de extração. Isso pode sugerir que o perfil diversificado de proteínas no farelo de amêndoa de macaúba pode ser influenciado pelas modificações geradas na solução de extração conforme a temperatura é aumentada, o que possibilita a solubilização cada vez maior de diferentes proteínas. Desta forma, nota-se que o tipo de matriz pode influenciar significativamente no delineamento das melhores condições do processo durante a extração.

Nota-se para todos os casos, que a partir de 10 minutos, praticamente a maior parte das proteínas foram extraídas, demonstrando que a etapa de lavagem é rápida, refletindo nos valores dos parâmetros k_1 maiores que k_2 . Além disso, nota-se que a etapa de lavagem ocorreu nos primeiros minutos de processo, inferior a 5 minutos.

De um modo geral, o aumento de temperatura foi favorável para o aumento do rendimento de extração, contudo, o aumento da concentração salina contribuiu mais que a temperatura para a melhoria no processo de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba.

5.2.3 Farelo da Polpa de macaúba

A Tabela 29 apresenta os parâmetros do modelo de dois estágios, assim como os parâmetros de avaliação do ajuste dos dados ao modelo, para a extração de proteínas do farelo da polpa de macaúba, considerando a variação da concentração salina da solução e da temperatura na extração.

Tabela 29 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de dois estágios em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para o farelo de polpa de macaúba

Condições experimentais	Parâmetros do modelo							
	R_1 (%)	k_1 (min^{-1})	R_2 (%)	k_2 (min^{-1})	Re (%)	R^2	RMSE	
0,00	46,33	9,61	41,64	0,382	87,97	0,9904	0,1034	
Concentração	0,02	62,69	6,12	29,84	0,311	92,53	0,9924	0,0883
NaCl	0,04	61,45	5,26	34,19	0,283	95,33	0,9746	0,1274
($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)	0,06	80,33	5,44	17,50	0,276	97,83	0,9981	0,0490
Temperatura	25	46,33	9,61	41,64	0,382	87,97	0,9904	0,1034
($^{\circ}\text{C}$)	35	64,83	7,68	30,99	0,224	95,82	0,9961	0,0781
	45	66,25	4,96	30,96	0,199	97,24	0,9780	0,1353

Avaliando os dados da Tabela 29, pode-se afirmar que o modelo cinético de dois estágios ajustou-se bem aos dados experimentais, pois o valor de R^2 , para todos os casos, foi maior que 97%, ou seja, mais de 97% dos dados experimentais podem ser representados pelo modelo. Os valores de RMSE também refletem um bom ajuste, pois os desvios foram até no máximo 13,5%, valores considerados coerentes e satisfatórios quando comparados aos ajustes feitos para os dados de

extração de proteínas do farelo de amendoim e amêndoa de macaúba, atendendo também aos desvios observados na literatura, quando o modelo de dois estágios é empregado (DAGOSTIN *et al.*, 2015, KOSTIC´ *et al.*, 2014).

De um modo geral, nota-se que o rendimento de extração total (Re) cresce com o aumento da temperatura e concentração salina da solução, chegando a valores de até 98%, trabalhos da literatura corroboram os efeitos observados (ARMANI & KADI, 2010, KOSTIC´ *et al.*, 2015; ZHONG *et al.*, 2014). Tanto o aumento da temperatura, quanto da concentração salina demonstram apresentar mesmo efeito sobre o aumento do rendimento de extração.

A extração na fase de lavagem mostra ser até 4,5 vezes maior que a extração na fase de difusão. O que reflete maior eficiência de extração da etapa de lavagem. Esta maior proporção é crescente com o aumento dos parâmetros temperatura e concentração de sal.

Os coeficientes de transferência de massa, k_1 e k_2 , decrescem com o aumento da temperatura e concentração salina, porém, o valor de k_1 é até 34 vezes maior que o do parâmetro k_2 , refletindo maior rapidez na etapa de extração de lavagem.

Observar o efeito do aumento da temperatura e concentração salina sobre o rendimento de extração traz informações muito importantes, pois no delineamento do processo de extração, pode-se escolher empregar o parâmetro de processo que mais influencia no rendimento de extração, considerando o mínimo consumo energético e de outros insumos.

De um modo geral, os resultados de rendimento cinéticos obtidos para o farelo de polpa de macaúba e amendoim são mais semelhantes se comparado aos dados obtidos para o farelo de amêndoa, provavelmente devido à composição proteica das matrizes, além da composição em relação a outros componentes, como os carboidratos solúveis o que pode ter influenciado na extração das proteínas.

Influência da Concentração de NaCl

Nota-se na Tabela 29, que o aumento da concentração salina da solução aumentou em até 11% o rendimento de extração (Re). Além disso, notou-se que o rendimento de extração na fase lavagem foi até 4,5 vezes maior que na fase de difusão, para o maior teor de sal. O aumento do teor de sal na solução aumentou em até 73% o rendimento da extração na fase lavagem, contudo, a extração na fase de difusão registrou uma tendência de queda com o aumento da concentração de sal, devido ao decaimento da força motriz, conforme mais proteína era removida na fase de lavagem.

Os coeficientes de transferência de massa, k_1 e k_2 , indicaram que a extração na fase lavagem a transferência de massa foi de até 25 vezes maior que a observada na fase de difusão, corroborando o mecanismo proposto pelo modelo de dois estágios, que diz que a etapa de lavagem durante a extração é predominantemente a mais rápida. A razão entre k_1 e k_2 decai conforme a concentração salina da solução aumenta. Mais uma vez, pode-se dizer que se o processo de extração na etapa de lavagem foi favorecido pelo aumento da concentração salina da solução de extração, e por isso esta etapa ocorreu cada vez mais com maior rapidez. A modelagem matemática deste estágio a partir dos dados experimentais reflete diretamente nos dados obtidos para o parâmetro k_1 . Contudo, pode-se afirmar que a concentração salina de 0,04 e 0,06 mol.dm⁻³ auxiliou no processo de extração das proteínas.

Na Figura 36 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas de farelo de polpa de macaúba em soluções salinas de diferentes concentrações.

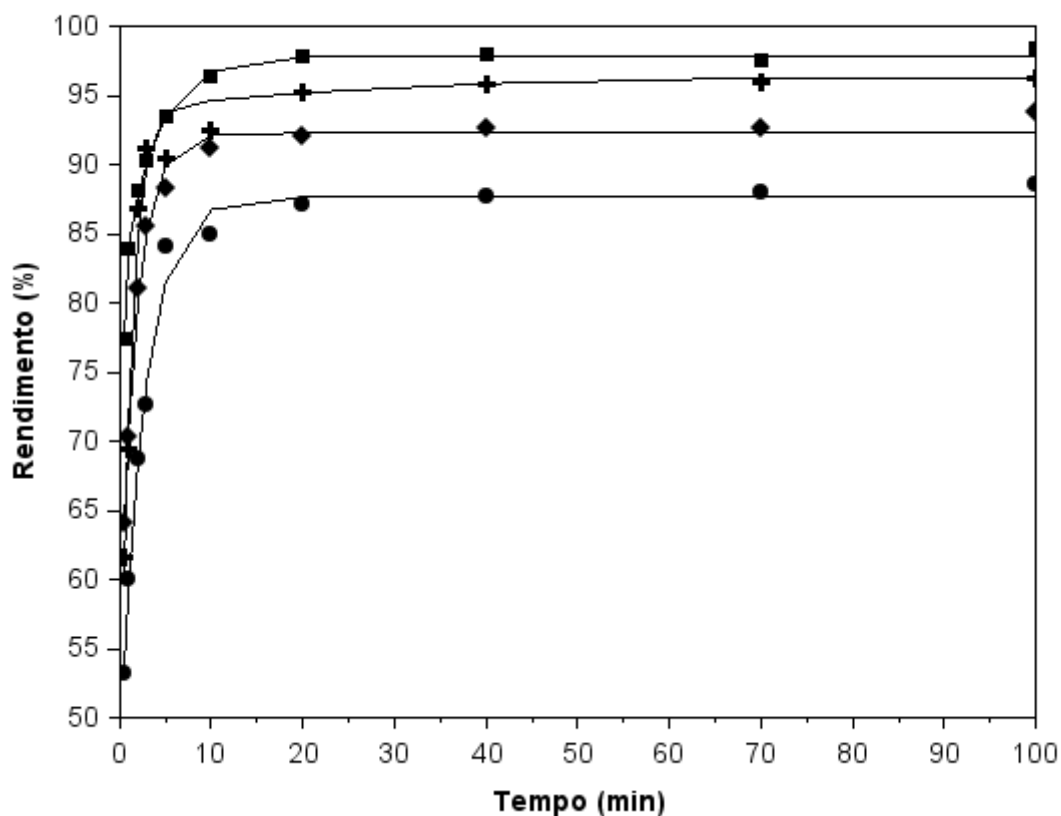


Figura 32 - Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—).

A Figura 32 mostra que o modelo de dois estágios ajustou-se bem aos dados experimentais, descrevendo bem o mecanismo de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba.

No geral, os dados mostram que antes dos 20 minutos de extração, a maior parte das proteínas foram extraídas (mais de 85%). As curvas mostram também que a maior parte da extração decorre na etapa de lavagem, durante os primeiros minutos de processo, menor que 5 minutos, demonstrando o quanto esta etapa é rápida e como a descrição desta fase pelo modelo é adequada.

Nota-se ainda na Figura 32, que a influencia da variação do teor de sal na solução de extração para a extração de proteínas de farelo de polpa de macaúba foi semelhante ao observado na extração de proteínas de farelo de amendoim. O aumento da concentração salina, apesar de aumentar o rendimento, não influenciou fortemente o aumento deste a partir da concentração de $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$.

Influência da Temperatura

Na Tabela 29, notou-se que o aumento da temperatura aumentou em até 10,5% o rendimento de extração, chegando a valores de 97%. Comportamento muito semelhante ao observado para a variação da concentração salina.

A temperatura aumentou em até 2 vezes o rendimento de extração na fase de lavagem em comparação com a fase de difusão. O aumento do rendimento em até 43% causado pela temperatura na etapa de lavagem demonstrou o efeito favorável da temperatura para o processo de extração, principalmente na etapa de extração mais rápida. Contudo, o efeito do aumento do rendimento pela influencia da concentração salina nesta etapa foi mais significativo, apesar de praticamente ser obtido o mesmo rendimento total (R_e), para a maior temperatura e concentração utilizada.

Os parâmetros de transferência de massa, k_1 e k_2 , decresceram com o aumento temperatura. Contudo, a transferência de massa na etapa de lavagem foi até 34 vezes maior que a transferência na etapa de difusão, demonstrando, conforme afirma o modelo de dois estágios, que a etapa de lavagem foi a mais rápida e predominante no processo de extração.

No entanto, a ordem de grandeza obtida para estes parâmetros reflete comportamento muito semelhante para a transferência de massa na extração de proteínas do amendoim, polpa e amêndoa de macaúba.

Na Figura 33 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas de farelo de polpa de macaúba em diferentes temperaturas.

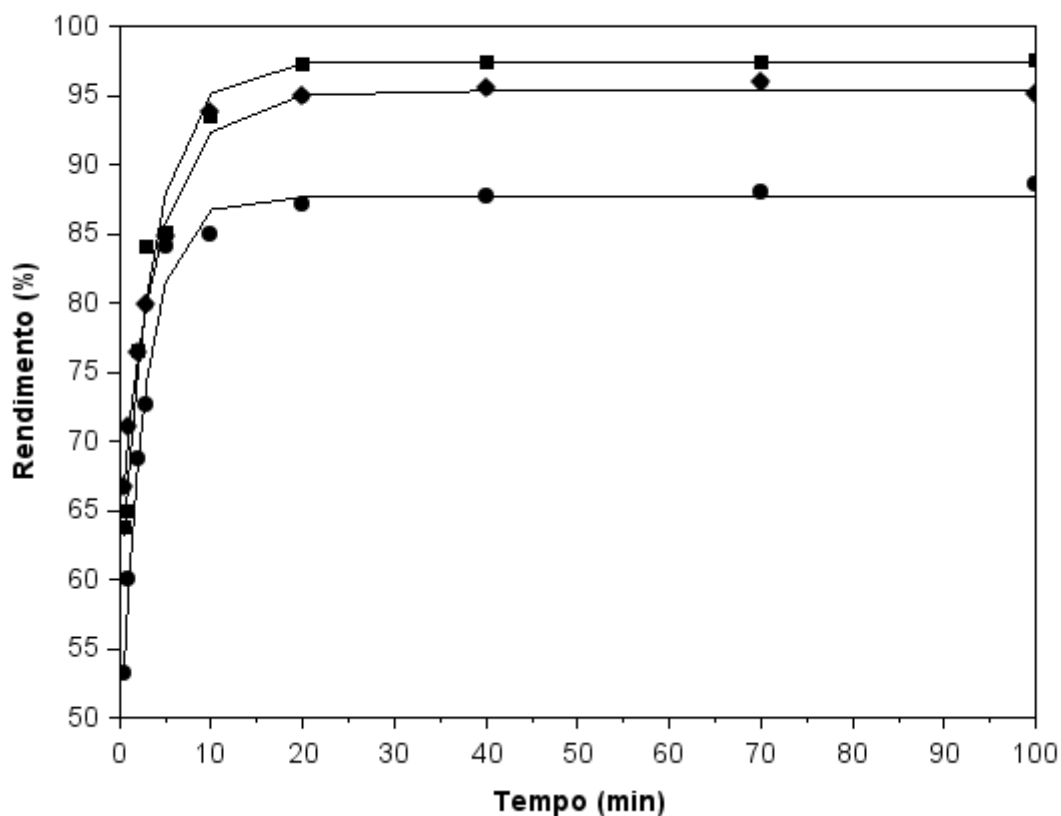


Figura 33- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de dois estágios (—).

Na Figura 33, nota-se que a influencia da temperatura no rendimento de extração de proteínas de farelo de polpa de macaúba apresenta comportamento intermediário ao observado para o farelo de amendoim e amêndoa.

Acima da temperatura de 25 °C, a influência da temperatura no aumento do rendimento, acima de 90%, é muito significativa. Mais uma vez nota-se que o modelo de dois estágios representa muito bem o mecanismo de extração de proteínas dos farelos de polpa de macaúba. Além disso, nota-se que a etapa de lavagem é responsável pela maior parte da extração de proteínas, ocorrendo rapidamente, em menos de 5 minutos de processo, o que reflete nos maiores valores de k_1 se comparado a k_2 . Este comportamento também pode ter prejudicado o modelamento do parâmetro k_1 durante a etapa de lavagem.

De um modo geral, o modelo cinético de dois estágios foi capaz de descrever o comportamento dos dados experimentais de extração de proteínas a partir de farelos de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba. Desta forma, pode-se dizer que o mecanismo de extração sólido-líquido das proteínas pode ser entendido como um processo que ocorre em dois estágios, onde a lavagem é a etapa mais importante do processo, e o maior rendimento de extração é obtido em um tempo relativamente muito curto de processo, menor que 5 minutos.

No entanto, destaca-se que a variação dos parâmetros de processo pode influenciar de forma diferente a extração de proteínas, dependendo do tipo de matriz vegetal utilizada, sendo importante sempre investigar, para cada matéria prima, o efeito e magnitude da influência dos parâmetros no processo e rendimento de extração.

Vários trabalhos da literatura utilizaram o modelo cinético de dois estágios para descrever a extração sólido-líquido de diferentes componentes. Segundo, ARMANI & KADI (2010), para a extração de óleo de oliva, os valores para k_1 ficaram entre 2,49 e 4,01 (min^{-1}) e para k_2 entre 0,13 e 0,17 (min^{-1}). Na extração de compostos antioxidantes de engaço de uva, KARABERY *et al.* (2013) reportam valores para k_1 variando de 2,261 a 4,49 (min^{-1}) e k_2 entre 0,1191 a 0,4329 (min^{-1}). KÓSTIC *et al* (2014) na extração de óleo de canhamo, reportam a faixa de valores para k_1 de 81 a 129 (min^{-1}) e k_2 de 0,358 a 0,775 (min^{-1}).

Nota-se que os valores reportados pela literatura para os parâmetros k_1 e k_2 , coeficientes de transferência de massa, apesar de variados e diferentes para cada tipo de matriz e componente extraído, estão em consonância com os valores obtidos para a extração de proteínas dos farelos de amendoim e amêndoa e polpa de macaúba.

5.3 Modelagem dos dados experimentais cinéticos utilizando o Modelo Cinético de Segunda Ordem

O modelo cinético de segunda ordem considera que as duas etapas envolvidas na extração sólido-líquido, lavagem e difusão, ocorrem simultaneamente e podem ser descritas de forma similar a uma reação heterogênea de segunda ordem, também utilizada para descrever processos de adsorção (CHAN *et al.*, 2014, DAGOSTIN *et al.*, 2015; ZHONG *et al.*, 2014).

A seguir serão apresentados e discutidos os dados experimentais cinéticos modelados pelo modelo de segunda ordem, para a extração de proteínas de farelo de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba, variando a temperatura e a concentração salina da solução de extração. Os parâmetros do modelo são; R_e (g/g), k (min^{-1}) e h (min^{-1}), respectivamente, o rendimento de extração no equilíbrio, coeficiente de transferência de massa e taxa inicial de extração de acordo com as equações 4.13(b) e 4.13 (c).

5.3.1 Farelo de amendoim

A Tabela 30 apresenta os parâmetros do modelo de segunda ordem, assim como os parâmetros de avaliação da falta de ajuste, obtidos a partir do modelamento aos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de amendoim considerando a variação de temperatura e concentração salina da solução de extração.

A avaliação da qualidade do ajuste ou performance do modelo foi realizada através do parâmetro coeficiente de determinação (R^2) em conjunto com o desvio quadrático médio (RMSE).

Tabela 30 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de segunda ordem em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para a extração de proteínas do farelo de amendoim

Condições Experimentais	Parâmetros do Modelo					
	Re (g/g)	k (min ⁻¹)	h (min ⁻¹)	R ²	RMSE	
Concentração NaCl (mol.dm ⁻³)	0,00	0,92	5,41	4,58	1,00	0,0010
	0,02	0,94	7,79	6,80	1,00	0,0109
	0,04	0,97	4,85	4,54	1,00	0,0017
	0,06	0,99	3,35	3,26	1,00	0,0008
Temperatura (°C)	25	0,92	5,41	4,58	1,00	0,0011
	35	0,94	3,82	3,40	0,99	0,0104
	45	0,98	5,68	5,41	1,00	0,0021

Os dados mostram que o rendimento de extração no equilíbrio (Re) cresce tanto com o aumento de temperatura, assim como com o aumento da concentração salina na solução de extração, sendo verificado um rendimento mínimo de 92%.

Os parâmetros k e h não variaram muito com a variação da temperatura e concentração salina, não foi possível observar uma tendência clara dos dados. Contudo, nota-se que a ordem de grandeza para ambos os parâmetros foi semelhante. O parâmetro h relaciona-se com k e Re, pelo fato de o rendimento estar muito próximo de 1 ou 100%, h e k assumem ordem de grandeza muito semelhante. Além disso, o parâmetro k representa o coeficiente de transferência de massa do processo e h a taxa inicial de extração, conforme pode ser visto nos dados apresentados na Figuras 22 e 23, a maior parte da extração ocorre muito rapidamente, em menos de 5 minutos de processo, este comportamento, onde a extração da proteína ocorre quase que instantaneamente na matriz, reflete nos valores próximos obtidos para os parâmetros k e h, sendo a taxa de extração inicial da proteína muito próxima do coeficiente de transferência de massa.

De um modo geral, pode-se dizer que os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo cinético de segunda ordem, uma vez que o R² para todos os casos, foi maior que 0,99, ou seja, mais de 99% dos dados experimentais pode ser explicado pelo modelo. Os valores de RMSE também refletem um bom ajuste, pois os erros de ajuste são baixos, menor que 0,0109. Na literatura encontra-se para este modelo valores de R² entre 0,868 e 1,00 e para RMSE entre 0,020 até 0,2215 (CISSÉ *et al.*, 2012; POOJARY & PASSAMONTI, 2015).

Influência da Concentração

Os dados da Tabela 30 mostram que o aumento da concentração de sal na solução de extração influenciou positivamente a extração de proteínas, sendo observado aumento no rendimento de até 7,6%. Contudo, esta influencia não foi perceptível nos parâmetros k e h , apesar da mesma grandeza associada aos seus valores refletir que o processo de extração ocorreu rapidamente, praticamente nos primeiros instantes de processo. Comparativamente, a literatura reporta a extração de diferentes biocomponentes a partir de matrizes vegetais, onde o modelo de segunda ordem foi utilizado satisfatoriamente, representado pelos parâmetros k e h .

Assim, ZHONG *et al.* (2014) para a extração de proteínas de *Caragana* empregando solução aquosa de NaOH, reportaram que na concentração da solução de $0,02 \text{ mol.dm}^{-3}$ o valor de k foi de $0,975 \text{ (min}^{-1}\text{)}$, enquanto para a concentração de $0,0 \text{ mol.dm}^{-3}$, o valor de k foi de $0,595 \text{ (min}^{-1}\text{)}$, tendo observado um aumento no rendimento de extração.

DAGOSTIN *et al.* (2015) reportam para a extração de óleo a partir da soja, empregando etanol, os seguintes valores médios para os parâmetros do modelo, coeficiente de transferência de massa, k , e taxa inicial de extração, h , foram respectivamente, $2,4546 \text{ (min}^{-1}\text{)}$ e $0,102 \text{ (min}^{-1}\text{)}$.

RAKOTONDRAMASY-RABESIAKA *et al.* (2009) reportam para a extração de protopina, um alcaloide obtido da *Fumaria Officinalis*, valores de coeficiente de transferência de massa, k , e taxa inicial de extração, h , na ordem de $5,6$ a $8,1 \text{ (min}^{-1}\text{)}$ e $8,7$ a $30,4 \text{ (min}^{-1}\text{)}$, respectivamente.

O modelo de segunda ordem é frequentemente utilizado para descrever o processo de extração sólido-líquido de compostos minoritários, antioxidantes e óleos essenciais de diversas matrizes vegetais, no entanto, os parâmetros do modelo refletem que para diferentes matrizes e soluções de extração, o comportamento do processo é descrito e influenciado de forma diferente pelos parâmetros de processo.

Na Figura 34 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amendoim em diferentes concentrações salina da solução de extração.

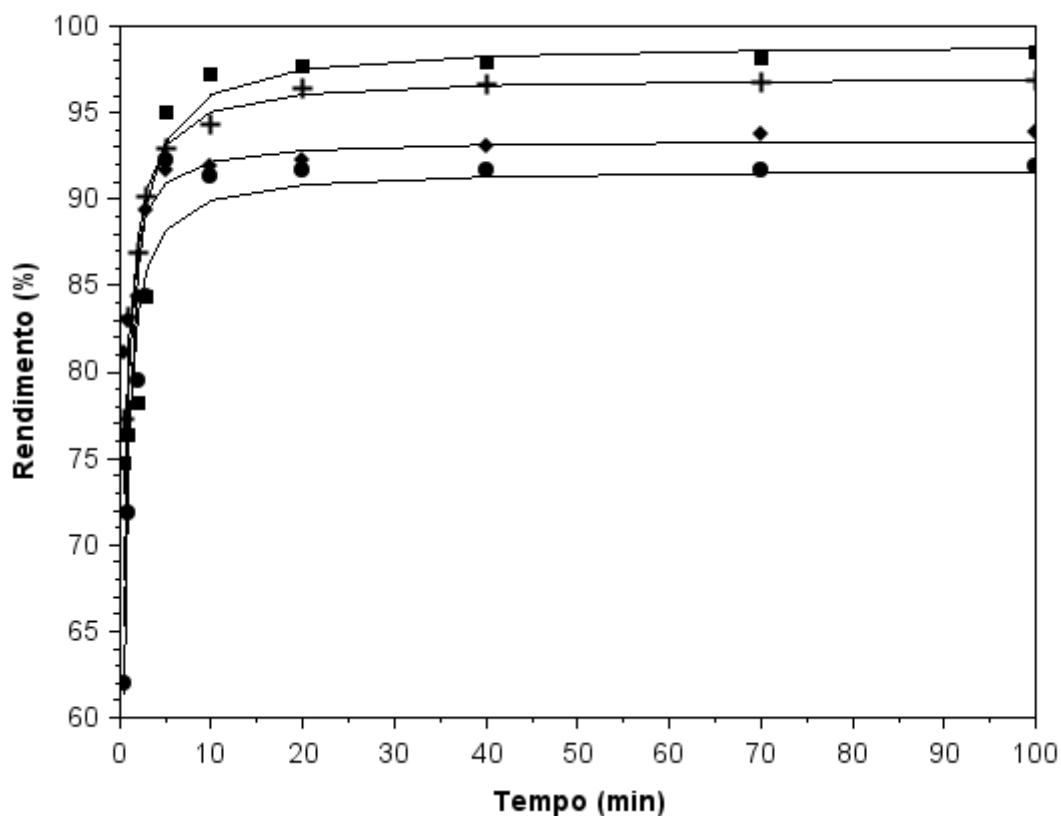


Figura 34- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).

Na Figura 38 acima, pode-se observar que o modelo se ajustou bem aos dados experimentais, onde nota-se que em 10 minutos, pelo menos 90% das proteínas foram extraídas para todos os casos, refletindo uma cinética de extração rápida. Nota-se ainda, que em menos de 5 minutos pelo menos 85% das proteínas foram extraídas, ou seja, quase que instantaneamente a maior parte das proteínas são extraídas no processo, para qualquer concentração salina, confirmando que a etapa do processo dominante na extração foi a lavagem, o que corroborou com os dados obtidos para k e h nas diferentes concentrações salinas.

Notou-se ainda, que a influencia da variação da concentração salina contribuiu para aumentar a solubilidade total de proteínas após a etapa de lavagem, onde efetivamente observou-se a distinção entre as curvas cinéticas, após os 10 minutos de processo, refletindo nos valores de Re obtidos pelo modelo.

De um modo geral, pode-se dizer que as concentrações salinas de 0,04 e 0,06 mol.dm⁻³ auxiliaram para obtenção de rendimentos de extração acima de 95%, em 20 minutos de processo de extração.

Influência da Temperatura

Nota-se na Tabela 31, que o aumento da temperatura aumentou o rendimento de proteínas extraídas em até 6,5%, sendo obtido o valor de até 98%, na maior temperatura. Um efeito muito semelhante ao observado para o aumento da concentração salina na solução de extração.

Com relação aos parâmetros do modelo, k e h , respectivamente o coeficiente de transferência de massa e a taxa inicial de extração, os valores destes parâmetros nas diferentes temperaturas de extração não demonstraram um padrão definido, assim como observado para a variação de concentração salina, possuindo ambos mesma ordem de grandeza, o que reflete um processo de extração que ocorre muito rapidamente.

Na literatura são reportados estudos cinéticos de extração de diferentes biocomponentes de matrizes vegetais onde a temperatura foi um parâmetro variado. O modelo de segunda ordem ajustou bem os dados experimentais e os parâmetros k e h foram obtidos.

Mesmo comportamento do presente trabalho foi observado por QU *et al.*, (2010) no estudo da extração de antioxidantes da fruta de romã. A variação da temperatura entre 25 e 45°C aumentou o rendimento de extração e também o coeficiente de transferência de massa, k , de 1,95 para 6,31 (L.g⁻¹.min⁻¹) e h de 10,5 para 100,72 (g.L⁻¹.min⁻¹).

Igualmente, SAXENA *et al.* (2012) reportam para a extração de gossipol do farelo desengordurado de algodão, usando etanol como solvente de extração, que o

aumento de temperatura entre 15 e 45°C, aumentou o rendimento de extração em até 66% e também o coeficiente de transferência de massa, k , entre 0,049 e 0,226 (min^{-1}).

No trabalho de ZHONG *et al.* (2014), para a extração de proteína a partir das sementes de *Caragana* foi reportado que o aumento da temperatura entre 20 e 40 °C aumentou o rendimento de extração, mas reduziu o coeficiente de transferência de massa, k , de 0,595 para 0,569 (min^{-1}).

Mais uma vez nota-se a partir dos trabalhos reportados na literatura, que a influência da matriz e do componente a ser extraída, assim como as condições do processo influenciou de diferentes formas o processo de extração sólido-líquido e por isso, sua descrição por modelos matemáticos, que se refletem nos valores dos parâmetros do modelo utilizado. Sendo, portanto, importante o estudo da extração sólido-líquido caso a caso.

Na Figura 35 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amendoim em diferentes temperaturas de extração.

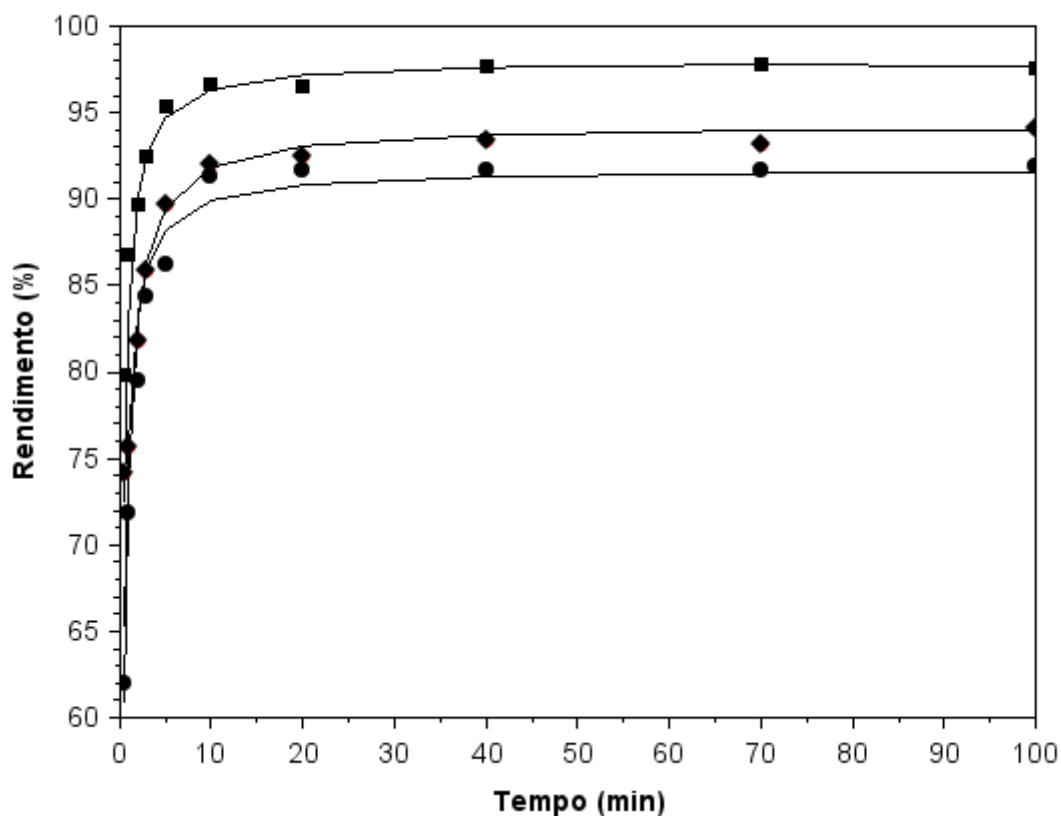


Figura 35- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).

Nota-se na Figura 35, que o modelo de segunda ordem também descreveu bem o comportamento dos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de amendoim em diferentes temperaturas.

Na Figura 35 é possível notar que o aumento da temperatura contribui para o aumento do rendimento de extração, sendo observado que para 10 minutos de processo, pelo menos 90% das proteínas foram extraídas. Contudo, mais uma vez nota-se que em menos de 5 minutos de processo, a maior parte das proteínas, cerca de 80%, foram extraídas muito rapidamente, seguindo mesma tendência que reflete um processo dominado pela etapa de lavagem instantânea.

Nota-se que a partir dos 10 minutos de processo, a temperatura contribui de forma distinta para o aumento do rendimento de extração, sendo a temperatura de 45 °C a que gera melhor rendimento.

5.3.2 Farelo da amêndoa de macaúba

A Tabela 31 apresenta os parâmetros do modelo de segunda ordem, assim como os parâmetros de avaliação da falta de ajuste, obtidos a partir do modelamento aos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba considerando a variação de temperatura e concentração salina da solução de extração.

A avaliação da qualidade do ajuste ou performance do modelo foi realizada através do parâmetro coeficiente de determinação (R^2) em conjunto com o desvio quadrático médio (RMSE).

Tabela 31 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de segunda ordem em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba.

Condições Experimentais	Parâmetros do Modelo					
	Re(g/g)	k(min ⁻¹)	h(min ⁻¹)	R ²	RMSE	
Concentração NaCl (mol.dm ⁻³)	0,00	0,68	1,98	0,99	0,9988	0,0132
	0,02	0,75	4,99	2,82	1,0000	0,0013
	0,04	0,80	4,14	2,64	0,9999	0,0047
	0,06	0,88	4,73	3,71	1,0000	0,0012
Temperatura (°C)	25	0,71	1,97	0,99	0,9998	0,0132
	35	0,80	1,83	1,17	0,9997	0,0083
	45	0,88	3,57	2,77	1,0000	0,0005

Os dados da Tabela 31 mostram que o rendimento de extração (Re) cresce tanto com o aumento de temperatura como com o aumento da concentração salina na solução de extração, apresentando para ambos os parâmetros uma mesma tendência de crescimento, de até 24%, sendo o rendimento máximo de extração de 88%.

Os parâmetros k e h tendem a aumentar com o aumento da temperatura e concentração salina na solução de extração. Contudo, nota-se que na concentração salina de 0,02 mol.dm⁻³, um pico para ambos os valores dos parâmetros cinéticos foi

observado na Tabela 31 assim como na temperatura de 45 °C, um maior valor foi obtido para os parâmetros.

Nota-se na Tabela 31, que os valores para o coeficiente de transferência de massa, k , foram ligeiramente maiores que os valores para a taxa inicial de extração, h . Contudo, é válido mencionar que a ordem de grande dos parâmetros, em comparação com os observados para o ajuste dos dados para a extração de amendoim é coerente, mas ligeiramente menor.

Contudo, observa-se na Figura 36 que a maior parte das proteínas, mais de 50%, é extraída nos instantes iniciais de processo, o que demonstra que o processo é muito rápido e caracterizado pela etapa de lavagem instantânea das proteínas, refletindo sobre o coeficiente de transferência de massa e taxa inicial de extração. Já nos momentos iniciais nota-se a influencia da variação da concentração salina na solução de extração e da temperatura de extração.

De um modo geral, pode-se dizer que os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo cinético de segunda ordem, uma vez que o R^2 para todos os casos foi maior que 99%, ou seja, mais de 99% dos dados experimentais pode ser explicado pelo modelo. Os valores de RMSE também refletem um bom ajuste, pois os erros de ajuste são baixos, menor que 0,0132. Na literatura encontra-se para este modelo valores R^2 de 0,868 a 1,00 e para RMSE entre 0,020 até 0,2215 (CISSÉ *et al.*, 2012; POOJARY & PASSAMONTI, 2015).

Influência da Concentração

Os dados da Tabela 31 mostra que o aumento da concentração de sal na solução de extração influenciou positivamente a extração de proteínas, sendo observado aumento no rendimento de até 24%. O mesmo efeito positivo é observado para os parâmetros do modelo, k e h , que aumentam com o aumento da concentração salina, contudo, um pico é observado na concentração de 0,02 mol.dm⁻³ e pouca diferença é notada para os parâmetros nas concentrações de 0,4 e 0,06 mol.dm⁻³. Os menores valores dos parâmetros observados para a concentração de 0 mol.dm⁻³ (solução sem sal) indica que para as proteínas do farelo de amêndoa de macaúba a presença de sal em concentrações baixas na solução aumentou a

solubilidade das proteínas significativamente (efeito *salting in*), conforme constatado no capítulo 2.

Sabe-se que o parâmetro h , taxa inicial de extração é dependente dos parâmetros rendimento e coeficiente de transferência de massa, assim, quanto mais próximo de 1 o rendimento, mais próximos se tornam os parâmetros h e k . O parâmetro k , coeficiente de transferência de massa, reflete o quão rápido o processo de extração ocorreu, envolvendo as etapas de lavagem e difusão. O parâmetro h mostra o quão rápido é a transferência de massa no instante inicial do processo, caracterizado pela lavagem. Assim, se os parâmetros h e k são ligeiramente diferentes, como é notado na Tabela 31, pode-se dizer que no processo de extração tanto a etapa de lavagem, quanto a de difusão, etapa rápida e lenta do processo de extração estão “equilibradamente” influenciando a extração, isso é notado principalmente para as concentrações menores de sal na solução de extração, quando o processo gera rendimentos baixos.

Este comportamento pode ser observado na Figura 36 onde são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba em diferentes concentrações salina da solução de extração.

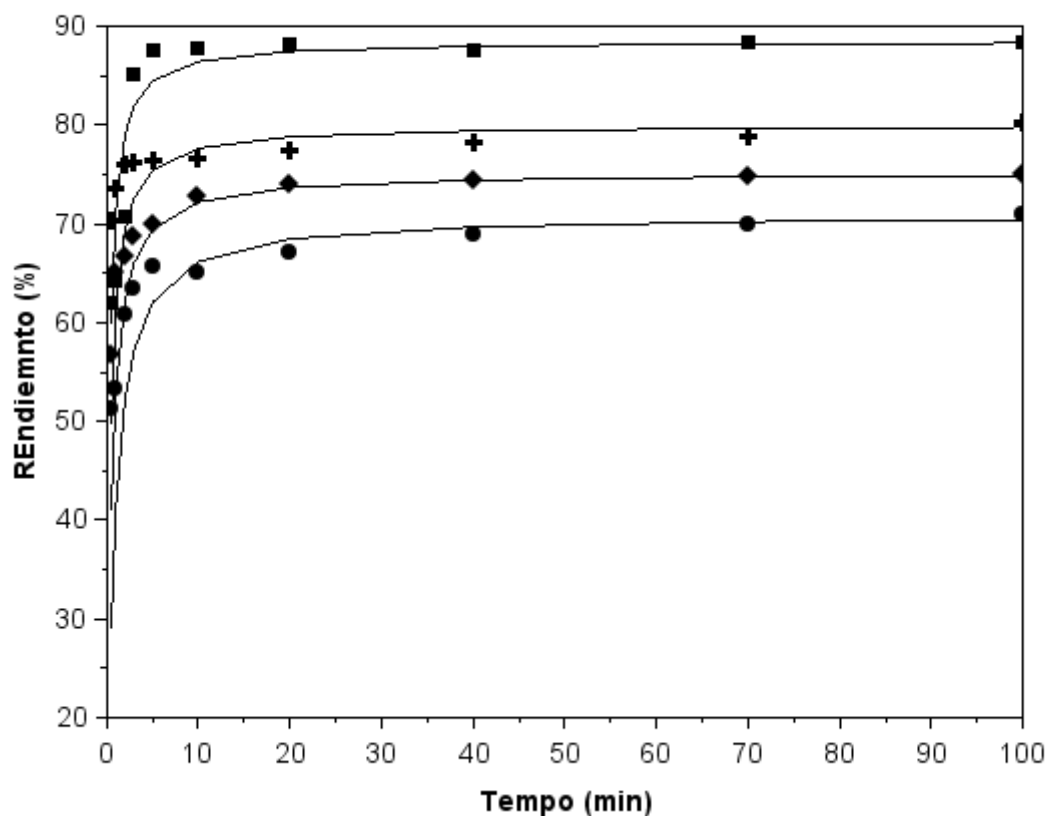


Figura 36- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).

Na Figura 36 acima, pode-se observar que o modelo se ajustou bem aos dados experimentais onde nota-se que em 20 minutos, pelo menos 65% das proteínas foram extraídas. Nota-se ainda que a concentração salina da solução de extração influenciou fortemente a extração de proteínas e por isso, seu rendimento e os coeficientes de transferência de massa, principalmente quando se compara as menores e maiores concentrações salinas estudadas.

Assim, nos primeiros instantes de processo, menos de 5 minutos, notou-se uma influencia distinta das concentrações salinas nas curvas de extração. Mesmo assim, o processo mostra-se rápido, de um modo geral, pois pelo menos 50% das proteínas são extraídas instantaneamente, no entanto, percebe-se que a etapa de

lavagem, a mais rápida do processo extrai menos proteínas para com as soluções de concentração de 0 e $0,02 \text{ mol.dm}^{-3}$, quando as proteínas do farelo de amêndoa mostram-se menos solúveis na solução, se comparado com o rendimento de extração em maiores concentrações, considerando os mesmos instantes iniciais. Este comportamento reflete-se nos coeficientes de transferência de massa e taxa inicial de extração dos processos nas diferentes condições.

Logo, o aumento da concentração salina influenciou mais significativamente o processo acima de $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$, onde a etapa de lavagem predomina na extração, devido a maior solubilidade das proteínas do farelo de amêndoa nestas condições, sendo que em menos de 5 minutos de processo pelo menos 75% das proteínas foram extraídas. O rendimento máximo foi obtido na maior concentração salina, $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$ onde 88% de proteínas foram extraídas da matriz. Para as maiores concentrações salinas o rendimento máximo foi observado em aproximadamente 10 minutos, o mesmo só ocorreu acima de 40 minutos para as menores concentrações de sal.

Influência da Temperatura

Na Tabela 31 pode-se perceber que a temperatura influenciou fortemente o processo de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Tanto o rendimento de extração quanto os parâmetros do modelo de segunda ordem, k e h , foram aumentados com o aumento da temperatura. O aumento de temperatura melhorou a solubilidade das proteínas na solução de extração, logo o processo de extração mostrou ser endotérmico.

Os parâmetros de coeficiente de transferência de massa, k , e taxa inicial de extração, h , são ligeiramente diferentes, sendo maior o valor de k que o de h , para uma mesma temperatura. Contudo, os dados apontam que o processo é rápido com predominância da etapa de lavagem contribuindo para a maior parte da extração das proteínas.

Na Figura 37 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba em diferentes temperaturas de extração.

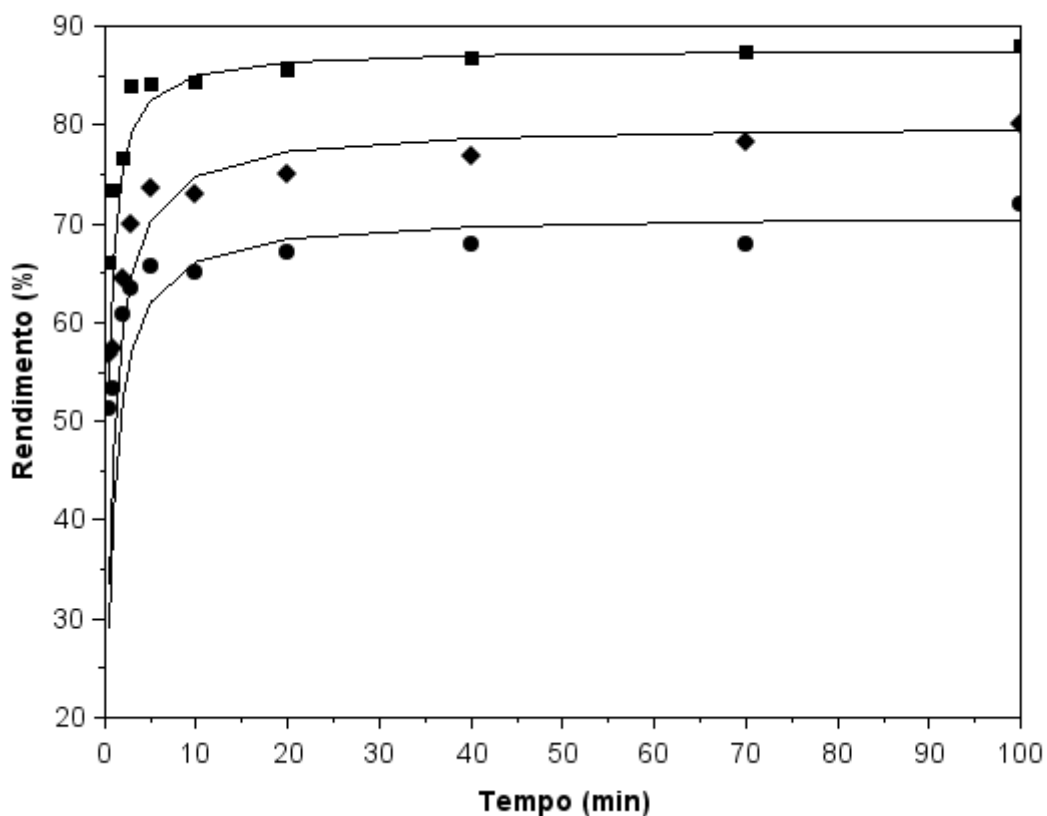


Figura 37- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).

De um modo geral pode-se dizer que o modelo de segunda ordem descreveu bem os dados experimentais de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba em diferentes temperaturas de processo.

Na Figura 37, pode-se notar que o aumento da temperatura aumentou o rendimento de extração, além de melhorar a cinética de extração, pois se percebe que em menos de 5 minutos, etapa rápida de extração, onde a lavagem predomina pelo menos 50% das proteínas foram extraídas instantaneamente, mas conforme a temperatura aumenta a extração nesta fase também foi maior, o que reflete sobre os parâmetros do modelo, k e h .

Uma vez que os parâmetros k e h não são muito distintos entre si para uma mesma temperatura, nota-se na Figura 37, que a maior extração das proteínas ocorreu nos instantes iniciais, primeiros 5 minutos de processo na etapa de lavagem, sendo que em 20 minutos praticamente o rendimento máximo observado para cada temperatura foi atingido, caracterizando o fim do processo de extração.

Para a extração de proteínas do farelo de amêndoa, o modelo de segunda ordem foi capaz de descrever o mecanismo de extração, que também é definido considerando-se dois mecanismos simultâneos de extração, a lavagem e difusão, sendo observados comportamentos distintos para a extração de proteínas na amêndoa e amendoim.

5.3.3 Farelo da polpa de macaúba

A Tabela 32 apresenta os parâmetros do modelo de segunda ordem, assim como os parâmetros de avaliação da falta de ajuste, obtidos a partir do modelamento aos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba considerando a variação de temperatura e concentração salina da solução de extração.

A avaliação da qualidade do ajuste ou performance do modelo foi realizada através do parâmetro coeficiente de determinação (R^2) em conjunto com o desvio quadrático médio (RMSE).

Tabela 32 - Parâmetros de ajuste do modelo cinético de segunda ordem em função da Concentração de sal na solução de extração e da Temperatura para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba.

Condições Experimentais	Parâmetros do Modelo					
	Re (g/g)	k(min ⁻¹)	h(min ⁻¹)	R ²	RMSE	
Concentração NaCl (mol.dm ⁻³)	0,00	0,89	2,34	1,85	1,0000	0,0210
	0,02	0,94	3,21	2,81	1,0000	0,0023
	0,04	0,96	3,45	3,20	1,0000	0,0019
	0,06	0,98	4,71	4,56	1,0000	0,0021
Temperatura (°C)	25	0,89	2,34	1,85	1,0000	0,0131
	35	0,96	2,74	2,51	0,9999	0,0050
	45	0,99	1,70	1,67	0,9999	0,0041

Os dados mostram que o rendimento de extração (R_e) cresceu tanto com o aumento de temperatura como com o aumento da concentração salina na solução de extração, no entanto, este aumento foi pouco significativo, apenas de 11%, sendo o rendimento mínimo de 89%. A extração de proteínas do farelo de amendoim apresentou comportamento semelhante.

Os parâmetros k e h aumentaram com o aumento da concentração salina, e diminuíram com o aumento da temperatura. Contudo, nota-se que a ordem de grandeza entre k e h é mais próxima conforme mais o rendimento se aproxima de 1 ou 100%, uma vez que estes parâmetros estão correlacionados através do parâmetro r_e , rendimento de extração. Conforme pode ser visto nos dados apresentados na Figura 38 a maior parte da extração ocorreu muito rapidamente, em menos de 5 minutos de processo, este comportamento, onde a extração da proteína ocorreu quase que instantaneamente na matriz, reflete nos valores próximos obtidos para os parâmetros k e h , sendo a taxa de extração inicial da proteína muito próxima do coeficiente de transferência de massa, isso se torna mais perceptível para as maiores concentrações e temperaturas investigadas.

De um modo geral, pode-se dizer que os dados experimentais se ajustaram bem ao modelo cinético de segunda ordem, uma vez que o R^2 para todos os casos, foi maior que 99%, ou seja, mais de 99% dos dados experimentais pode ser explicado pelo modelo. Os valores de RMSE também refletem um bom ajuste, pois os erros de ajuste são baixos, menor que 0,0210. Na literatura encontra-se para este modelo valores de R^2 de 0,868 a 1,00 e para RMSE entre 0,020 até 0,2215 (CISSÉ *et al.*, 2012; POOJARY & PASSAMONTI, 2015).

Influência da Concentração

Os dados da Tabela 32 mostram que o aumento da concentração de sal na solução de extração influenciou positivamente a extração de proteínas, sendo observado aumento no rendimento de até 10%. Esta mesma influencia foi percebida nos parâmetros do modelo, k e h . Apesar do aumento destes parâmetros com o aumento da concentração salina, os valores destes parâmetros, para as maiores concentrações salinas, são próximos, indicando que a maior parte da extração de

proteínas ocorre nos instantes iniciais de processo, onde predomina a etapa de lavagem.

Na Figura 38 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba em diferentes concentrações salinas da solução de extração.

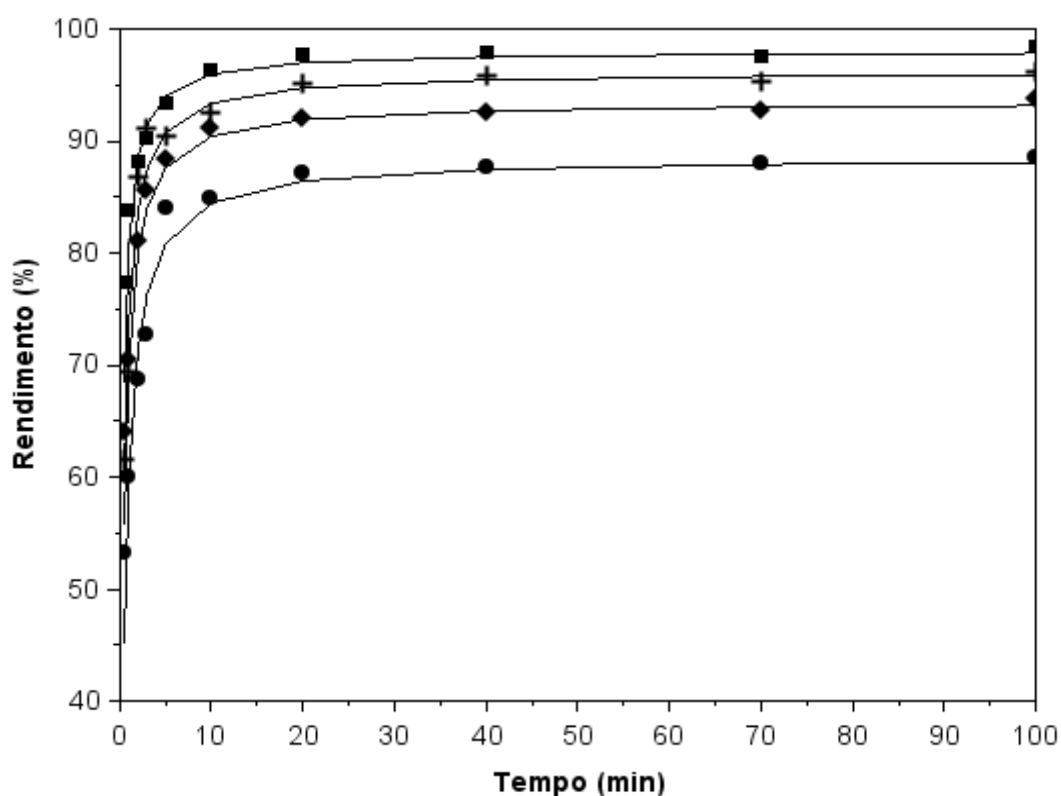


Figura 38- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).

Na Figura 38 nota-se que o aumento da concentração salina melhorou o rendimento de extração de proteínas, no entanto, a partir da concentração de 0,02 mol.dm⁻³, mais de 90% das proteínas foram extraídas da matriz.

De um modo geral, o modelo de segunda ordem foi capaz de descrever o comportamento de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba, em diferentes concentrações salinas de forma satisfatória.

Nota-se que em menos de 5 minutos de processo a maior parte das proteínas foram extraídas quase que instantaneamente, refletindo a rápida extração da maior parte das proteínas na etapa de lavagem. Esta etapa extraiu mais proteínas quanto maior foi a concentração salina na solução de extração, o que refletiu nos parâmetros cinéticos do modelo, k e h , e no rendimento de extração. Logo, pode-se dizer que o aumento da concentração de sal na solução de extração acima de $0,02 \text{ mol.dm}^{-3}$ aumentou a solubilidade das proteínas do farelo de polpa de macaúba.

Conforme mencionado anteriormente, apesar de os parâmetros k e h aumentarem com a concentração de sal, a diferença de magnitude entre os valores destes parâmetros apresentam-se cada vez menores. Isso pode ser explicado pelo comportamento observado na Figura 38, onde se percebe que para as maiores concentrações salinas a maior parte das proteínas são extraídas quase que instantaneamente no processo.

De um modo geral, em 20 minutos de processo, praticamente o máximo rendimento de extração foi obtido, considerando a máxima capacidade de extração para cada concentração, indicando o fim do processo.

Influência da Temperatura

O aumento da temperatura aumentou o rendimento de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba em até 11%. Contudo, a partir de $35 \text{ }^\circ\text{C}$ notou-se que um rendimento obtido foi acima de 95%.

No entanto, os parâmetros k e h sofreram decréscimo com o aumento da temperatura, sendo maiores na temperatura de $35 \text{ }^\circ\text{C}$. Notou-se que apesar disso, a magnitude de k e h para uma mesma temperatura não foi muito diferente, apesar de k ser maior que h , o que pode estar associado a efeitos de viscosidade do meio e solubilidade das proteínas que sofreram com aumento da temperatura.

Na Figura 39 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba em diferentes temperaturas de extração.

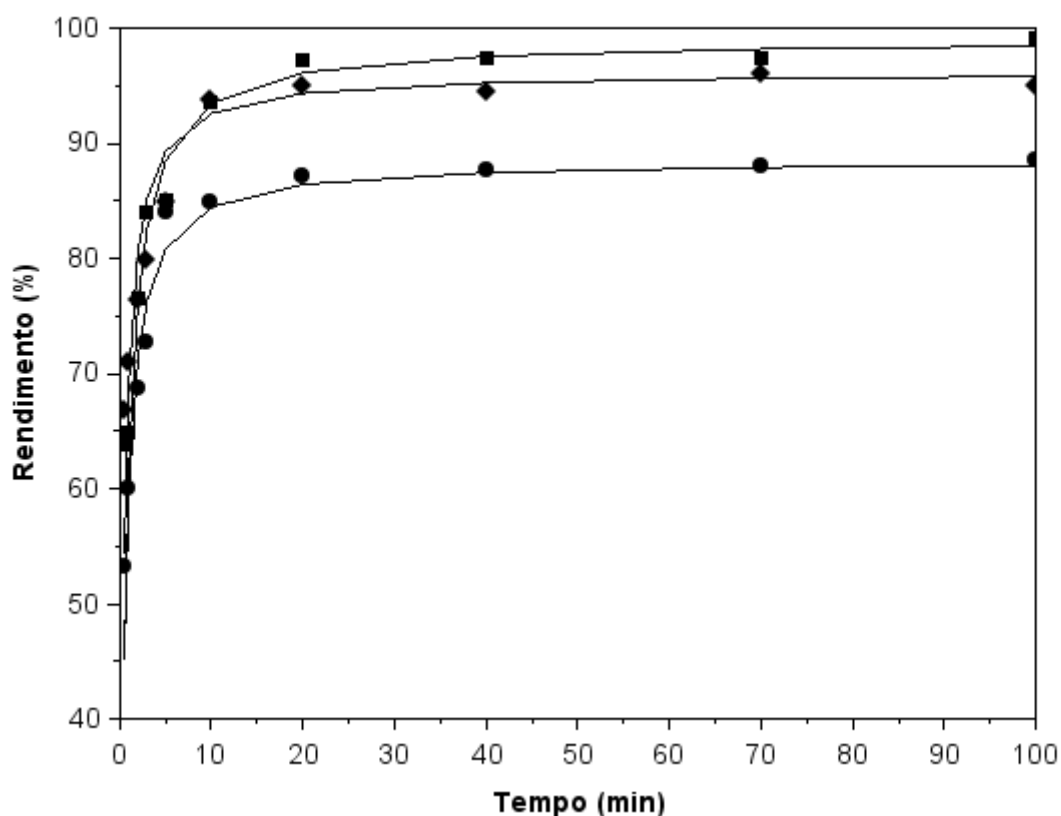


Figura 39- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo cinético de segunda ordem (—).

A Figura 39 mostra que o modelo de segunda ordem descreveu bem o comportamento dos dados experimentais. Nota-se ainda que o aumento da temperatura melhorou o rendimento de extração, mas que a partir de 35 °C pouca melhora foi observada.

Na Figura 39 notou-se ainda, que antes dos 5 minutos de processo, maior parte das proteínas foram extraídas instantaneamente para todas as temperaturas. Contudo, maior rendimento de extração foi obtido nesta etapa para as maiores temperaturas, principalmente para a de 35 °C, quando mais de 70% das proteínas são extraídas refletindo nos valores de k e h . Em 20 minutos de processo,

praticamente o rendimento máximo observado para cada temperatura foi atingido, caracterizando o final do processo de extração.

Uma avaliação global mostra que nos vários trabalhos da literatura os parâmetros do modelo de segunda ordem são dependentes das condições de extração e tipo de componente extraído e matriz utilizada.

Segundo vários trabalhos da literatura, destacando de Ho *et al.*(2005) na extração de compostos antioxidantes do tronco de uma árvore denominado Tilia, os valores de k variaram de 0,0141 a 0,0406 ($L.g^{-1}.min^{-1}$) e h de 0,0193 a 0,103 ($g.L^{-1}.min^{-1}$). Por sua vez Qu *et al.* (2010) na extração de antioxidantes da fruta de romã obtiveram k na ordem de 1,95 a 6,31 ($L.g^{-1}.min^{-1}$) e h de 10,5 a 100,72 ($g.L^{-1}.min^{-1}$).

Comparando com os valores obtidos no presente trabalho, nas mesmas unidades expressas nas referências acima, observa-se que para a extração de proteínas do farelo de amendoim o valor de k variou entre 34,72 a 80,63 ($L.g^{-1}.min^{-1}$) e h entre 0,32 a 0,44 ($g^{-1}.L.min^{-1}$), para a extração de proteínas do farelo de amêndoa os valores k estão entre 10,65 a 26,69 ($L.g^{-1}.min^{-1}$) e h entre 0,18 a 0,69 ($g^{-1}.L.min^{-1}$), enquanto para as proteínas extraídas do farelo de polpa os valores observados foram para k de 4,44 a 8,85 ($L.g^{-1}.min^{-1}$) e h de 0,98 a 2,42 ($g^{-1}.L. min^{-1}$).

Considerando mesmas unidades dos parâmetros k e h reportadas neste trabalho, segundo DAGOSTIN *et al* (2015) para a extração de óleo de soja usando etanol como solvente, os valores dos parâmetros do modelo de segunda ordem foram: k entre 2,669 a 2,024 (min^{-1}) e h entre 0,065 a 0,139 (min^{-1}). Os valores são ligeiramente diferentes aos obtidos, mas encontram-se dentro de uma mesma ordem de grandeza.

Nota-se que na extração de proteínas a partir das diferentes matrizes os valores dos parâmetros se diferenciam ligeiramente, assim como os valores reportados na literatura para diferentes processos de extração, o que demonstra a influencia dos diferentes contextos de extração sobre o processo.

De um modo geral, o modelo de segunda ordem pode ser utilizado para descrever a extração de proteínas das matrizes investigadas.

5.4. Modelagem dos dados experimentais cinéticos utilizando o modelo proposto por Osbourn e Katz (1944).

O modelo difusivo proposto por Osbourn e katz (1944) considera que o processo de extração sólido-líquido é controlado pela difusão do soluto na matriz, sendo a resistência externa a transferência de massa desprezível, e por isso, o soluto presente inicialmente na superfície é removido instantaneamente no início do processo.

A seguir serão apresentados e discutidos os dados experimentais cinéticos modelados pelo modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944), para a extração de proteínas nos farelo de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba, variando a concentração salina e a temperatura da solução de extração. Os parâmetros do modelo são; f_1 , f_2 , D_1 ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$) e D_2 ($\text{m}^2.\text{s}^{-1}$), respectivamente, as frações de proteínas extraídas na etapa difusiva rápida e lenta, e os coeficientes de difusividade nas etapas rápida e lenta do processo de extração, foram determinados segundo os procedimentos e rotinas dos Anexo D2 e D3.

5.4.1 Farelo de amendoim

A Tabela 33 apresenta os parâmetros do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944), assim como os parâmetros de avaliação da falta de ajuste, obtidos a partir do modelamento aos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de amendoim considerando a variação de temperatura e concentração salina da solução de extração.

A avaliação da qualidade do ajuste ou performance do modelo foi realizada através do parâmetro coeficiente de determinação (R^2) em conjunto com o desvio quadrático médio (RMSE).

Tabela 33 - Parâmetros de ajuste do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) em função da concentração de sal na solução de extração e da temperatura para a extração de proteínas do farelo de amendoim

Condições experimentais	f1	D1	f2	D2	R ²	RMSE	
		x 10 ¹⁰ (m ² .s ⁻¹)		x 10 ¹¹ (m ² .s ⁻¹)			
Concentração NaCl (mol.dm ⁻³)	0,00	0,7217	1,0664	0,2783	1,6082	0,9978	0,1075
	0,02	0,7783	1,7964	0,2217	1,6822	0,9441	0,0478
	0,04	0,7431	2,4442	0,2569	1,3639	0,9861	0,0642
	0,06	0,5054	4,5400	0,4946	1,7081	0,9761	0,1157
Temperatura (°C)	25	0,7217	1,0664	0,2783	1,6082	0,9978	0,1075
	35	0,5317	2,3154	0,4683	2,3366	0,9808	0,0775
	45	0,7564	2,6236	0,2436	1,9537	0,9720	0,1117

De acordo com a Tabela 33 pode-se observar que os valores de D1 tende aumentar com o aumento de concentração salina e a temperatura, demonstrando que a transferência de massa nos instantes iniciais, onde a remoção de proteínas é mais rápida, é influenciada pelos parâmetros temperatura e concentração salina. No entanto, os valores de f1 não necessariamente seguem a mesma tendência de D1. Os parâmetros da fase difusiva rápida (f2 e D2) mostram-se estáveis com relação à variação temperatura, concentração salina.

Contudo, pode-se notar na Tabela 33, que a etapa difusiva rápida é a que predomina, de um modo geral, na extração de proteínas a partir da matriz de farelo de amendoim, pois os parâmetros f1 e D1 são pelo menos 1,02 e 9,9 vezes maiores, respectivamente, que os parâmetros f2 e D2.

Desta forma, pode-se observar na Tabela 33 que mais da metade da proteína extraída do farelo de amendoim, nas diferentes condições, ocorre na etapa difusiva rápida do processo, conforme pode ser observado nas Figuras 44 e 45, onde nota-se nos primeiros minutos do processo as curvas com inclinação muito íngreme. A literatura reporta trabalhos onde o processo de extração de biocomponentes foram modelados pelo modelo de Osbourn e Katz (1944), satisfatoriamente.

No trabalho de HERODEZ *et al.* (2003) para a extração de ácido Ursólico a partir de folhas de erva cidreira (*Melissa officinalis*), empregando etanol, em diferentes temperaturas de 20 a 60 °C, foram reportados valores para D1 entre (0,48 e 0,62) x10⁻¹¹ m².s⁻¹ e para D2 entre (0,027 e 0,032) x 10⁻¹¹ m².s⁻¹. Para a extração

de ácido carnosóico, nas mesmas condições, os valores de D1 variaram de (0,29 a 0,52) $\times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e D2 de (0,013 a 0,039) $\times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Tao *et al.*, (2014) reportam para a extração de compostos fenólicos a partir de bagaço de uva, empregando etanol hidratado e temperaturas variando de 20 a 50 °C, valores para os coeficientes de difusividade na ordem de (2,44 a 4,51) $\times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para D1 e (3,94 a 5,09) $\times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para D2.

Nota-se que dependendo da matriz e do soluto extraído os valores de coeficiente de difusão podem variar, contudo, nota-se que os valores observados na Tabela 33, para a extração de proteínas do farelo de amendoim mostram-se coerentes com os reportados na literatura, ou seja, a difusão na etapa rápida (D1) é maior que a difusão na etapa lenta (D2).

Adicionalmente, pode-se dizer que o modelo proposto ajustou-se bem aos dados experimentais cinéticos, uma vez que o valor de R^2 , para todos os casos, foi maior que 94%, ou seja, mais de 94% dos dados experimentais pode ser explicado pelo modelo. Os valores de RMSE também refletem um bom ajuste, pois os desvios apresentam valores inferior a 0,1157. Na literatura, encontra-se para este modelo desvios na faixa de 0,0074 a 1,501 para o valor de RMSE (DAGOSTIN *et al.*, 2015, KOSTIC *et al.*, 2014).

Portanto, o modelo pode ser utilizado para descrever e prever o comportamento do processo de extração de proteínas do farelo de amendoim, considerando as condições investigadas.

Influencia da concentração

Na Tabela 33 nota-se que os parâmetros do modelo, de um modo geral, não apresentaram uma tendência clara com relação ao aumento da concentração salina, no entanto, os valores de D1 tendem a aumentar com o aumento da concentração salina. Nota-se, contudo, que f_1 é até 3,5 vezes maior que f_2 e D1 até 26,6 vezes maior que D2. Isso mostra que para as diferentes concentrações salinas, a etapa de difusão rápida é predominante nos processos de extração de proteínas do farelo de amendoim.

Observando os valores de f_1 e f_2 , que representam as frações extraídas em cada etapa difusiva, pode-se perceber que até a concentração salina de $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$, mais de 70% da extração das proteínas ocorre na etapa difusiva rápida. Na concentração de $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$, a extração de proteínas é equilibrada entre a etapa rápida e lenta de difusão. Desta forma, é mais interessante para o processo trabalhar com concentrações até $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$ de NaCl na solução de extração.

Na Figura 40 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amendoim em diferentes concentrações salina da solução de extração.

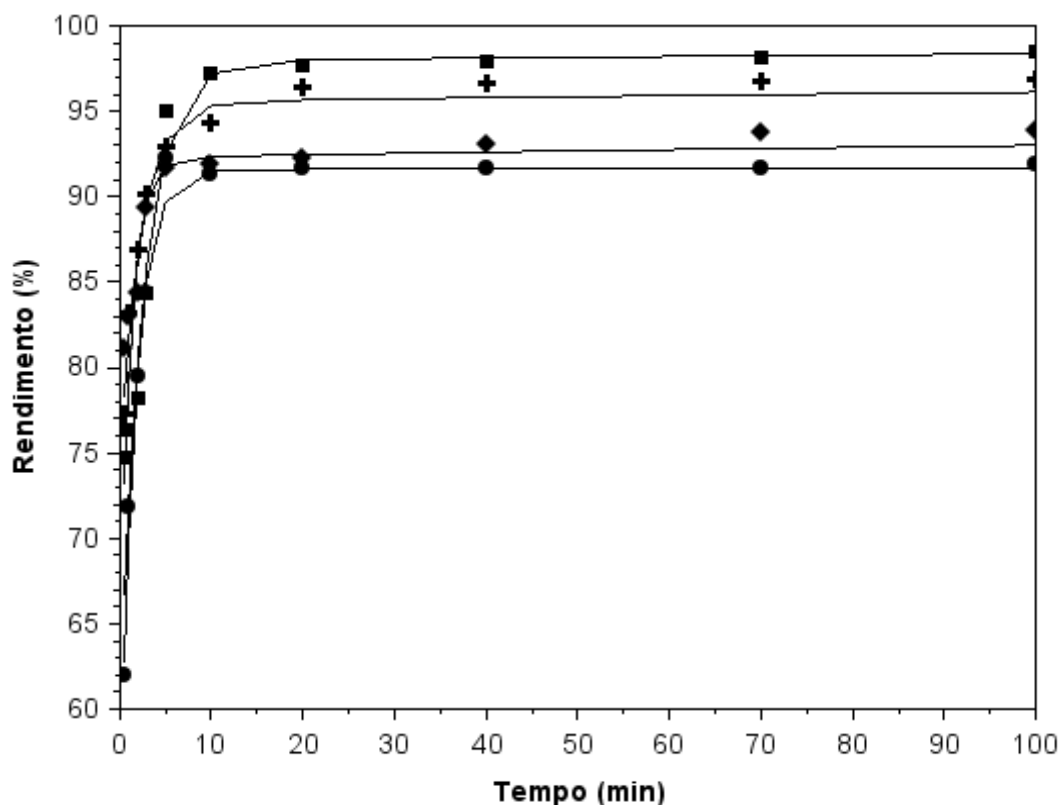


Figura 40 – Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm^{-3} , (◆) $0,02 \text{ mol.dm}^{-3}$, (+) $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$ e (■) $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).

A Figura 40 mostra que o modelo ajustou de forma adequada os dados experimentais. Além disso, pode-se notar que em 5 minutos de processo, a maior

parte da proteína, pelo menos 89%, foi extraída, demonstrando que a etapa difusiva rápida predomina no processo de extração. Em 20 minutos de processo, praticamente o máximo de extração, em cada condição, foi obtido, caracterizando o fim do processo.

Vale observar que praticamente para todas as concentrações de sal na solução de extração mais de 90% de rendimento foi obtido, comparando com as frações f1 e f2 extraídas nas etapas de extração difusivas, pode-se dizer que pelo menos um rendimento de extração 45% em proteínas, extraídas nas diferentes concentrações salinas, foi observado durante o processo difusivo de transferência de massa na etapa rápida, sendo portanto, este fenômeno o mais importante envolvido na extração de proteínas, principalmente em baixas concentrações salinas.

Influencia da temperatura

Na Tabela 33, nota-se para as diferentes temperaturas de extração, que o aumento da temperatura não gera um comportamento claro quanto as fração f1 e f2. Contudo, nota-se que D1 aumenta com aumento da temperatura, ou seja, a transferência de massa é mais rápida conforme se aumenta a temperatura do sistema. Sabe-se que a temperatura auxilia no processo de extração, pois aumenta a solubilidade das proteínas e facilita o transporte das mesmas da matriz para a solução.

De um modo geral, a etapa difusiva rápida predomina no processo de extração a diferentes temperaturas, pois os valores de f1 são até 3,7 vezes maiores que f2 e D1 até 13,43 vezes maior que D2.

Na Figura 41 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amendoim em diferentes temperaturas de extração.

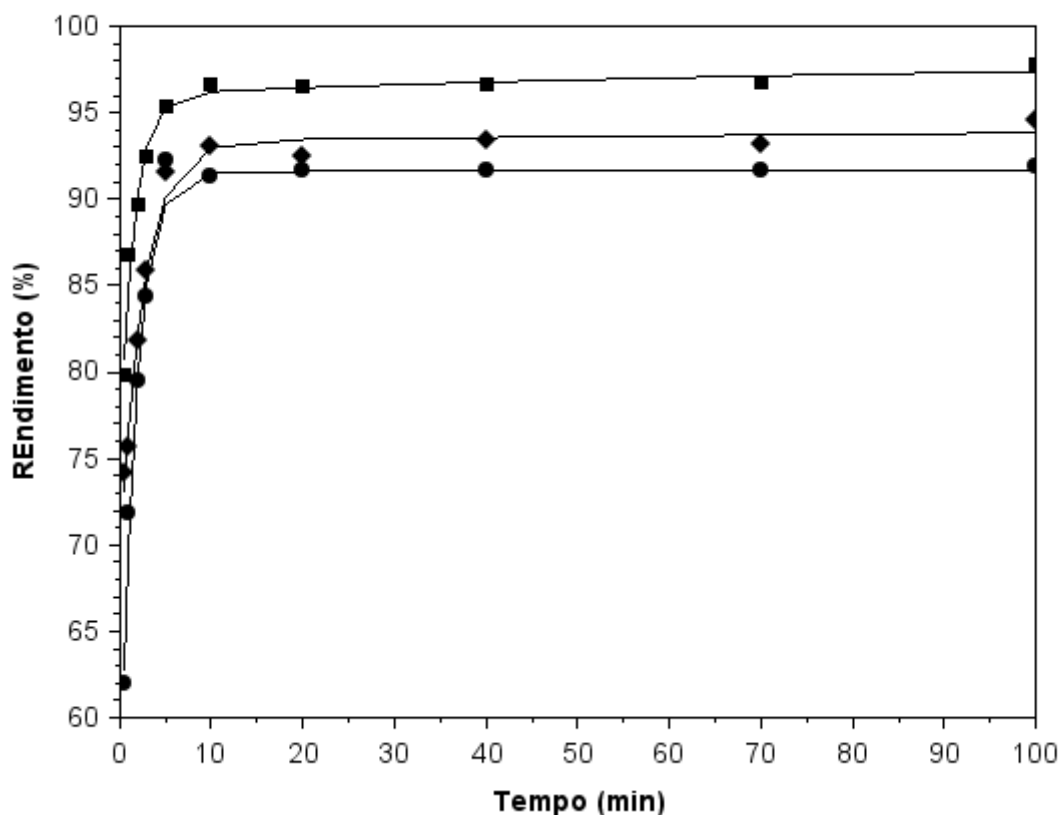


Figura 41- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amendoim. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).

Na Figura 41 é possível observar que o modelo ajustou bem os dados experimentais. Nota-se ainda, que nos primeiros 5 minutos de processo, pelo menos 88% das proteínas foram extraídas, mostrando que o processo de extração é rápido e principalmente caracterizado pela etapa rápida difusiva, por isso é notado maior extração nesta etapa (f1) que na etapa de difusão lenta (f2).

Além disso, pode-se notar que para a temperatura de 45 °C a extração mostra um comportamento diferente e mais favorável para a extração, refletindo nos valores de D1 e D2, principalmente.

Pode-se dizer da observação da Figura 41 que pelo menos 90% de rendimento em proteínas foi obtido nas diferentes temperaturas, comparando com os valores das frações f1 e f2, pode-se dizer que a difusão das proteínas na etapa

mais rápida do processo de extração foi responsável por pelo menos 49% do total de proteínas extraídas.

Logo, o processo de difusão rápida predomina na extração a diferentes temperaturas, sendo que em 10 minutos, praticamente o máximo de proteína extraída, para cada temperatura, foi obtido.

5.4.2 Farelo de amêndoa de macaúba

A Tabela 34 apresenta os parâmetros do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944), assim como os parâmetros de avaliação da falta de ajuste, obtidos a partir do modelamento aos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba considerando a variação de temperatura e concentração salina da solução de extração.

A avaliação da qualidade do ajuste ou performance do modelo foi realizada através do parâmetro coeficiente de determinação (R^2) em conjunto com o desvio quadrático médio (RMSE).

Tabela 34- Parametros de ajuste do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) em função da concentração de sal na solução de extração e da temperatura para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba

Condições experimentais	f1	D1		D2		R ²	RMSE
		$\times 10^{11}$	f2	$\times 10^{12}$			
		(m ² .s ⁻¹)		(m ² .s ⁻¹)			
Concentração NaCl (mol.dm ⁻³)	0,00	0,8244	5,6207	0,1756	1,3117	0,9162	0,0844
	0,02	0,7866	8,8847	0,2134	4,2293	0,9767	0,0526
	0,04	0,8751	1,4540	0,1249	1,6594	0,9575	0,0326
	0,06	0,5487	1,3876	0,4513	1,4524	0,9118	0,1022
Temperatura (°C)	25	0,8244	5,6207	0,1756	1,3117	0,9162	0,0844
	35	0,7518	5,1873	0,2482	1,3560	0,9032	0,0987
	45	0,7946	7,5656	0,2054	4,4189	0,9435	0,0854

Na Tabela 34, não é possível notar uma tendência para os parâmetros do modelo f1, f2, D1 e D2, considerando a variação da concentração salina e a temperatura de processo. Contudo, nota-se que f1 é pelo menos 1,22 vezes maior que f2 e D1 pelo menos 8,79 vezes maior que D2, logo, a difusão rápida predomina no processo de extração.

É importante mencionar que os valores de f_1 e f_2 representam as frações de proteínas extraídas na difusão rápida e lenta, e na Tabela 34 nota-se que pelo menos 55% do total de proteínas extraídas no processo é extraída na fase de difusão rápida (f_1), ou seja, a maior parte da extração da proteína no processo ocorre inicialmente, de forma rápida, conforme pode-se ver nas retas íngremes de subida das curvas das Figuras 46 e 47.

Adicionalmente, pode-se dizer que o modelo proposto ajustou-se bem aos dados experimentais cinéticos, contudo, valores de R^2 abaixo do encontrado para os outros modelos foi obtido, de 0,9032 ou 90%. Os valores de RMSE refletem um bom ajuste, pois os desvios apresentam valores inferiores a 0,1022. Na literatura, encontra-se para este modelo valores de R^2 entre 0,927 a 0,995 e os desvios na faixa de 0,0074 a 1,501 o valor de RMSE (DAGOSTIN *et al.*, 2015, KOSTIC *et al.*, 2014).

Portanto, o modelo pode ser utilizado para descrever e prever o comportamento do processo de extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba, considerando as condições investigadas.

Influencia da concentração

Na Tabela 34, não é possível identificar um comportamento definido para os parâmetros do modelo, f_1 , f_2 , D_1 e D_2 , conforme a concentração salina da solução de extração varia. Contudo, percebe-se que em concentração salina acima de 0,04 mol.dm⁻³ o coeficiente de difusão na etapa rápida diminui, indicando transporte mais lento das proteínas pela matriz, contudo, o parâmetro f_1 é menor na maior concentração salina. Nas concentrações 0,00 e 0,02 mol.dm⁻³ o valor de D_1 é maior que para as demais concentrações o que indica que estas concentrações salinas facilitam a solubilidade das proteínas, e por isso, sua extração.

Pode-se perceber que para todos os casos, a extração difusiva na etapa rápida é predominante, uma vez que os valores de f_1 são até 7 vezes maiores que f_2 e D_1 até 42,85 vezes maior que D_2 .

A ordem de grande de D_1 e D_2 está coerente a valores reportados na literatura para diferentes biomoléculas extraídas de matriz sólida, contudo, nota-se

que os valores de D1 e D2 para a extração de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba são ligeiramente menores aos observados para a extração de proteínas do farelo de amendoim.

Na Figura 42 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba em diferentes concentrações salinas da solução de extração.

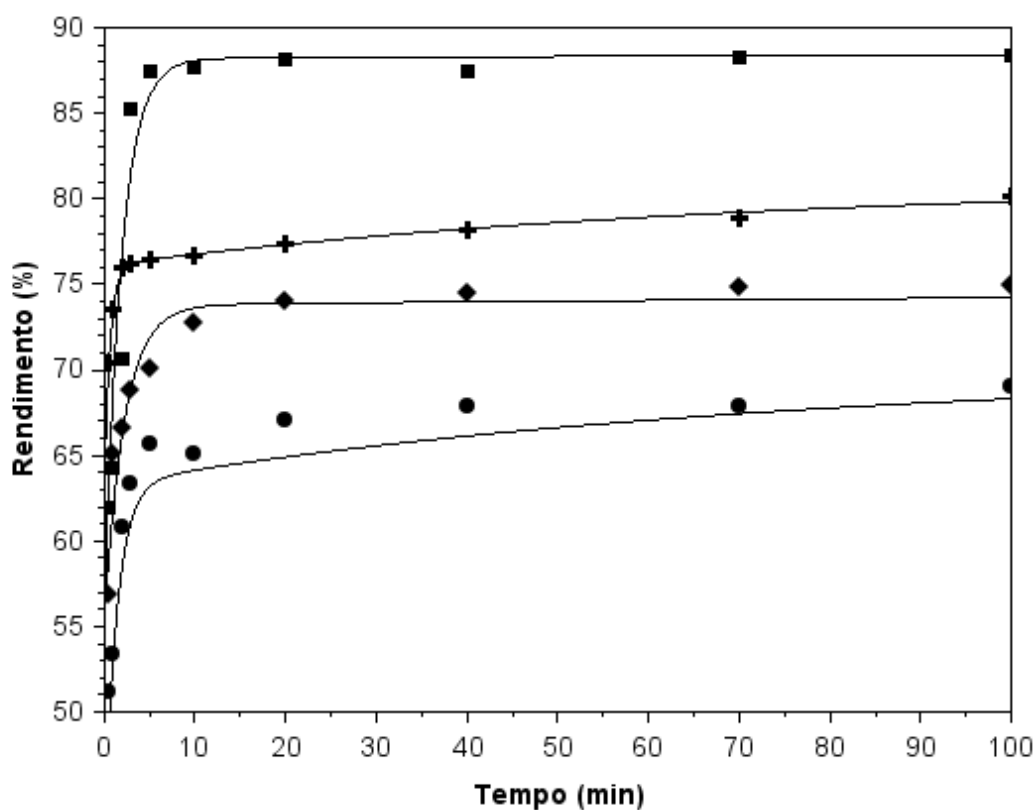


Figura 42- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm⁻³, (◆) 0,02 mol.dm⁻³, (+) 0,04 mol.dm⁻³ e (■) 0,06 mol.dm⁻³. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).

Na Figura 42, nota-se que a variação da concentração salina da solução de extração influenciou fortemente a extração de proteínas, principalmente quanto ao rendimento. Nota-se também de um modo geral, que o modelo ajustou-se bem aos dados experimentais, podendo ser utilizado de forma razoável para prever o comportamento cinético da extração de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba.

Nota-se que a maior parte das proteínas são extraídas nos primeiros 5 minutos de processo, o que mais uma vez reforça que a etapa inicial de extração, difusiva rápida, predomina no processo de extração difusivo. Apesar de nas maiores concentrações salinas resultarem em maior rendimento de extração, nota-se que ao longo dos primeiros 5 minutos uma maior velocidade de extração é observada para as concentrações 0,00 e 0,02 mol.dm⁻³, onde o valor de D1, coeficiente de difusão foram maiores, ou seja, nestas concentrações a extração é facilitada, porém permite limitada solubilidade das proteínas na solução salina de extração. Assim, pode-se dizer que a concentração salina influenciou mais fortemente na capacidade máxima de proteína que poderia ser solubilizada na solução salina, do que no mecanismo de extração, e neste caso, difusão propriamente dita.

Em 20 minutos de processo, praticamente o máximo de proteínas possível de ser extraída em cada concentração foi atingido, caracterizando o fim do processo.

É possível perceber na Figura 42, que um máximo de extração de até 88% foi obtido na maior concentração salina e mínimo de 68%, na menor concentração salina. Avaliando as frações f1 e f2, pode-se dizer que pelo menos 48% da proteína extraída no processo, na diferentes condições de concentração, foi extraída na etapa inicial, de difusão mais rápida. Contudo é importante mencionar que mesmo sendo extraído menos que 75% de proteínas nas baixas concentrações de sal (0 e 0,02 mol.dm⁻³), nestas condições a maior parte das proteínas, mais de 54% foi removida na fase inicial.

Influencia da temperatura

Na Tabela 34, nota-se que o aumento da temperatura aumentou ligeiramente as difusividades, principalmente na temperatura de 45 °C, porém, diminuiu a fração de proteína extraída na etapa rápida. Sabe-se que o aumento da temperatura do sistema influencia na solubilidade e mobilidade das moléculas, favorecendo a extração.

De um modo geral, nota-se que para a variação de temperatura, a etapa de difusão rápida também é predominante, sendo D1 até quase 43 vezes maior que D2 e f1 até 4,7 vezes maior que f2. Pode-se dizer que o aumento da temperatura auxilia

no processo de extração, principalmente em termos de rendimento, sendo o rendimento na maior temperatura investigada cerca de 23% maior que na menor temperatura. A ordem de grandeza observada para os parâmetros D1 e D2 estão coerentes as encontradas na literatura, mas inferiores as obtidas para a extração de proteínas do amendoim.

Na Figura 43 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba em diferentes temperaturas de extração.

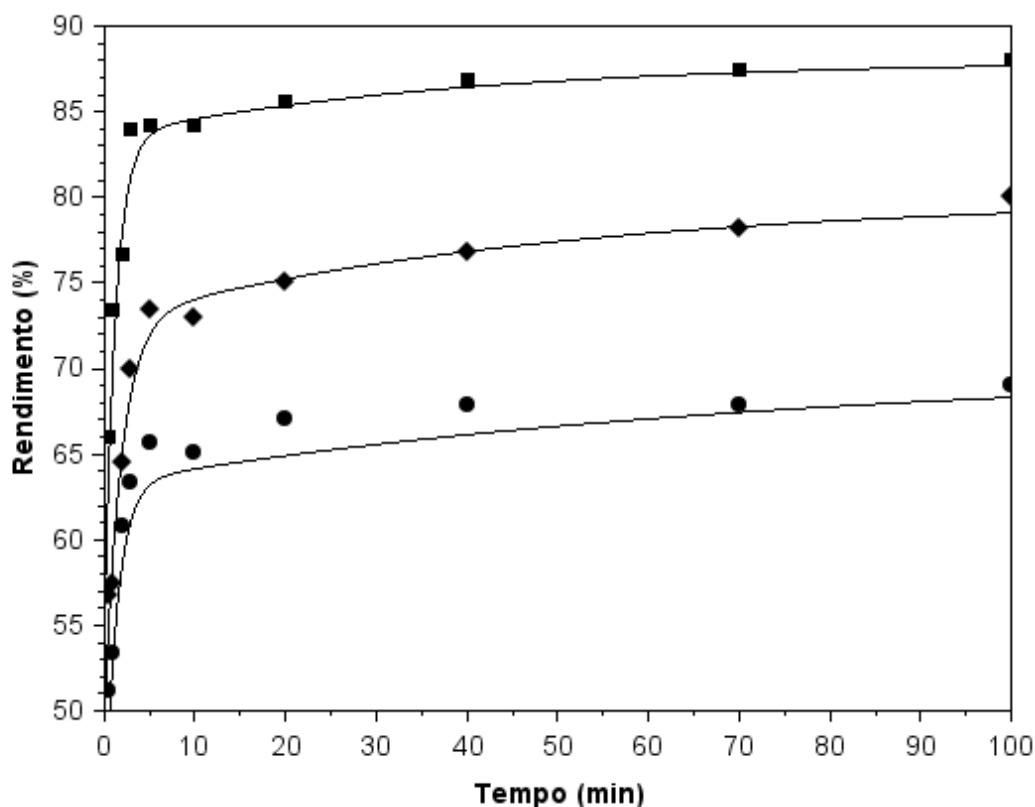


Figura 43- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■.) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—).

Na Figura 43 pode-se observar que o aumento da temperatura auxiliou no processo de extração, sendo obtidos maiores rendimentos nas maiores

temperaturas. Além disso, nota-se que o modelo ajustou bem os dados experimentais.

Contudo, nota-se na Figura 43 que em menos de 5 minutos de processo, a maior parte da proteína foi extraída, o que reafirma que a etapa rápida de difusão predomina no processo, além disso, é possível perceber uma pequena diferença nas curvas de extração, ao longo dos 5 minutos para as diferentes temperaturas, sendo a curva para a maior temperatura mais íngreme, demonstrando velocidade de extração maior na fase rápida inicial, que resulta em maior extração quanto ao rendimento.

Em 10 minutos de processo praticamente o máximo de extração em cada temperatura é atingido.

Considerando a fração extraída por difusão na etapa rápida e o rendimento máximo de extração, para as diferentes temperaturas, nota-se que pelo menos 56% do total de proteínas extraídas foi removida na etapa de difusão rápida, chegando até 70% para a temperatura mais alta investigada.

Desta forma, pode-se dizer que a temperatura facilita a extração das proteínas da matriz sólida, pois favorece a solubilização das mesmas em solução, aumentando também a mobilidade das moléculas e por isso a velocidade de extração. Logo, para a extração de proteínas do farelo de amêndoa, a temperatura demonstra exercer importante influencia para o aumento do rendimento de extração, mais que no caso da extração das proteínas do farelo de amendoim.

5.4.3 Farelo da polpa de macaúba

A Tabela 35 apresenta os parâmetros do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944), assim como os parâmetros de avaliação da falta de ajuste, obtidos a partir do modelamento aos dados experimentais de extração de proteínas do farelo de polpa de macauba considerando a variação de temperatura e concentração salina da solução de extração.

A avaliação da qualidade do ajuste ou performance do modelo foi realizada através do parâmetro coeficiente de determinação (R^2) em conjunto com o desvio quadrático do erro médio (RMSE).

Tabela 35- Parâmetros de ajuste do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) em função da concentração de sal na solução de extração e da temperatura para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba

Condições experimentais		$f1$	$D1 \times 10^{11}$ ($m^2 \cdot s^{-1}$)	$f2$	$D2 \times 10^{12}$ ($m^2 \cdot s^{-1}$)	R^2	RMSE
Concentração NaCl (M)	0,00	0,7494	1,3748	0,2506	1,0671	0,9851	0,1388
	0,02	0,5392	1,9832	0,4608	1,0361	0,9787	0,1041
	0,04	0,9144	3,2149	0,0856	8,3448	0,9810	0,1181
	0,06	0,7527	8,9542	0,2473	5,6169	0,9912	0,0751
Temperatura ($^{\circ}C$)	25	0,7494	1,3748	0,2506	1,0671	0,9851	0,1388
	35	0,5301	2,0462	0,4699	7,5040	0,9961	0,1103
	45	0,5424	7,7464	0,4576	5,3071	0,9826	0,1165

Observando a Tabela 35, não é possível perceber uma tendência muito clara do comportamento dos parâmetros do modelo, para as variações de concentração salina e temperatura do processo de extração. Contudo, para o parâmetro D1 nota-se que o aumento da concentração salina e da temperatura, aumenta o valor deste parâmetro, caracterizando um processo cada vez mais eficiente quanto à difusão na etapa rápida de extração.

De um modo geral, pode-se dizer que a etapa rápida de difusão foi predominante no processo, uma vez que, o valor de $f1$ foi pelo menos 1,13 vezes maior que o valor de $f2$, e D1 pelo menos 3,85 vezes maior que D2.

Nota-se também na Tabela 35, que as maiores frações de proteínas foram extraídas na fase de difusão rápida.

Comparando-se a ordem de grandeza dos parâmetros D1 e D2 na extração de proteínas da polpa de macaúba com relação à extração da amêndoa e amendoim, nota-se que os valores são de mesma ordem de grandeza para ambos os farelos da macaúba, sendo os valores de D1 e D2 um pouco menores que os obtidos para o farelo de amendoim.

Adicionalmente, pode-se dizer que o modelo proposto ajustou-se bem aos dados experimentais cinéticos, pois valores de R^2 acima de 0,9787 ou 97,87% foram observados. Os valores de RMSE refletem um bom ajuste, pois os desvios apresentam valores inferiores a 0,1388. Na literatura, encontra-se para este modelo desvios na faixa de 0,0074 a 1,5010 para o valor de RMSE (DAGOSTIN *et al.*, 2015, KOSTIC *et al.*, 2014, TAO *et al.*, 2014). Portanto, o modelo pode ser utilizado para descrever e prever o comportamento do processo de extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba, considerando as condições investigadas.

Influência da concentração

Na Tabela 35 nota-se uma tendência não muito clara dos parâmetros do modelo com a variação de concentração salina. No entanto, pode-se perceber que D1 aumenta com a concentração. De um modo geral, a etapa de difusão rápida é predominante nas diferentes concentrações salinas, pois o valor de f_1 é até 10,68 vezes maior que f_2 , e D1 até 16 vezes maior que D2.

Na Figura 44 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba em diferentes concentrações de sal na solução de extração.

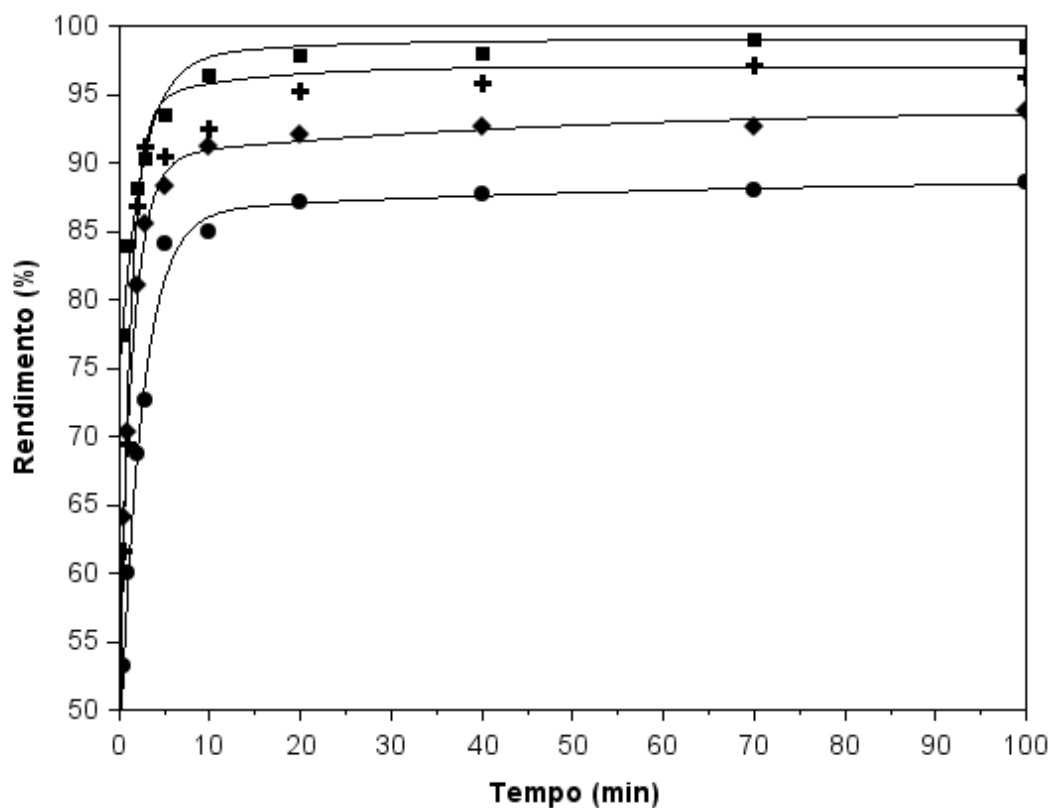


Figura 44- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em concentrações salinas de: (●) 0 mol.dm^{-3} , (◆) $0,02 \text{ mol.dm}^{-3}$, (+) $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$ e (■) $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944)(—).

Na Figura 44, nota-se que o modelo ajustou razoavelmente bem os dados experimentais, e que o aumento da concentração salina contribui para o aumento no rendimento de extração, contudo, a partir da concentração $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$, pequena contribuição do aumento da concentração é observado no processo.

Em 10 minutos de processo, praticamente o máximo de proteína possível de ser extraída foi observado, demonstrando que o processo de extração é rápido e atinge bons rendimentos, até na menor concentração salina, sendo observado mais de 85% de extração.

Nota-se que antes dos 5 minutos de processo, a maior parte das proteínas foi extraída, sendo possível verificar pequena diferença entre as curvas obtidas nas

diferentes concentrações salinas, quanto à etapa difusiva rápida, principalmente nas duas menores concentrações, sendo muito próximos os comportamentos nas demais concentrações, o que reflete na variação de D_1 obtida e demonstra que esta primeira etapa difusiva é rápida no processo.

Nota-se considerando as frações de proteínas extraídas na etapa de difusão rápida, que pelo menos 49 % das proteínas foram extraídas nesta fase. Nota-se ainda, que as maiores extrações nesta fase correspondem as maiores concentrações salinas investigadas, sendo removido pelo menos 74,5% das proteínas nesta fase inicial. Este comportamento pode estar associado a provável facilidade de solubilização das proteínas na solução, quando concentração acima de $0,04 \text{ mol.dm}^{-3}$ é empregada.

Desta forma, o mecanismo mais significativo para a extração de proteínas foi a extração por difusão rápida. É importante mencionar que os rendimentos de extração aumentam com o aumento da concentração salina de aproximadamente 88% até 99%.

Desta forma, pode-se dizer que a concentração de sal na solução de extração influencia no rendimento e mecanismo de extração, sendo que no maior teor de sal as proteínas solubilizam-se mais facilmente, sendo a etapa rápida inicial de difusão importante para a extração das proteínas de forma eficiente.

Influencia da temperatura

Na Tabela 35, nota-se que com o aumento da temperatura o parâmetro D_1 aumenta mesmo a fração f_1 diminuindo, o que reflete a alta velocidade de extração na fase inicial de difusão. Contudo, pelo menos 50% das proteínas foram extraídas na fase inicial de difusão.

Desta forma, a etapa de difusão rápida predomina no processo de extração, uma vez que o valor de f_1 é até 3 vezes maior que f_2 e D_1 até 14,5 vezes maior que D_2 .

Na Figura 45 são apresentados os dados experimentais cinéticos e o modelamento aos mesmos para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba em diferentes temperaturas de extração

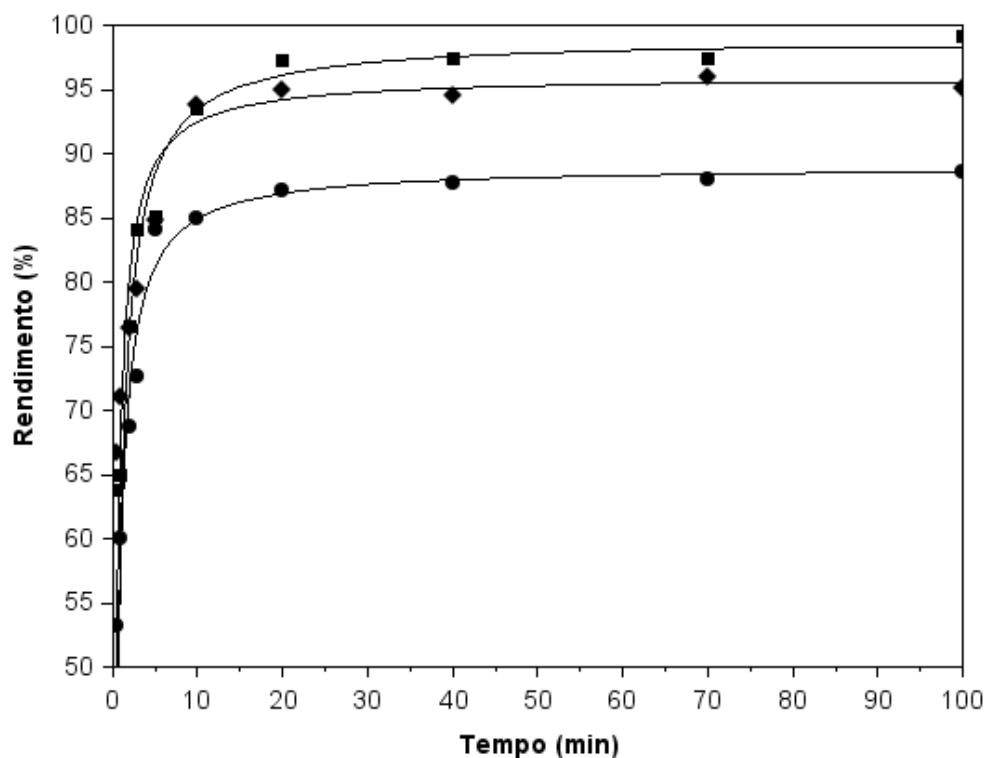


Figura 45- Curvas cinéticas para a extração de proteínas do farelo de polpa de macaúba. Dados experimentais em temperaturas de: (●) 25°C, (◆) 35°C, (■) 45°C. Ajuste aos dados experimentais do modelo difusivo proposto por Osbourn e Katz (1944) (—)

Na Figura 45, nota-se que o aumento da temperatura melhora a extração global, no entanto, pouca diferença é observada acima de 35°C, quando mais de 90% de rendimento é obtido. O modelo ajustou satisfatoriamente os dados experimentais.

Nota-se que em 20 minutos de processo, praticamente o máximo de extração de proteínas foi atingido, para todas as temperaturas. Nos primeiros 10 minutos de processo, a maior parte das proteínas foi extraída, demonstrando a rapidez do processo. Em até 5 minutos de processo nota-se que as curvas crescem de forma íngreme, refletindo a rapidez da etapa inicial difusiva, onde pelo menos metade das proteínas são extraídas, de forma eficiente. Nota-se que nesta etapa a curva de 25

°C é a que sobe de forma menos íngreme, porém é a que remove mais proteínas nesta fase, chegando a 66% de extração, considerando a fração f1 extraída e a quantidade máxima de proteínas extraída no equilíbrio, nesta temperatura.

É possível notar na Figura 45, que pelo menos 88% de proteína é extraída, mesmo considerando a menor temperatura. Desta forma, pode-se dizer que o aumento da temperatura contribui para aumentar a solubilidade das proteínas na solução, aumentando o rendimento e facilitando a extração, principalmente na fase inicial de difusão. Logo, o mecanismo de extração é influenciado pela temperatura, porém, a partir de 35°C, nota-se menor contribuição do aumento da temperatura para aumentar o rendimento de extração.

Como comparação, a literatura reporta valores para os parâmetros do modelo D1 e D2, coeficientes de difusão, na extração de diferentes biocomponentes de matrizes vegetais.

Assim, HOJNIC *et al.* (2008) reportam para a extração de luteína, a partir das pétalas das flores de *Marigold*, que apesar do rendimento de extração ter aumentado proporcionalmente com o aumento da temperatura, o coeficiente de difusão, D1, diminuiu, sendo obtido valores a 20°C e 60°C de $(6,128 \text{ e } 1,500) \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente. O valor de D2 foi da ordem de $1,1 \times 10^{-14} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

HERODEZ *et al.* (2003) na extração de um antioxidante (ácido oleanólico) a partir de folhas de erva cidreira (*Melissa officinalis*), empregando etanol em diferentes temperaturas, obtiveram valores para D1 da ordem de $4,0 \times 10^{-12}$; $6,9 \times 10^{-12}$ e $5,8 \times 10^{-12} \text{ (m}^2/\text{s)}$, nas respectivas temperaturas de 20, 40 e 60°C. O valor de D2 ficou na ordem de $6,9 \times 10^{-13} \text{ (m}^2/\text{s)}$.

5.5. Modelagem Termodinâmica do processo de extração de proteína

Considerando que o modelo cinético de segunda ordem ajustou-se bem aos dados experimentais, em diferentes temperaturas estudadas, o parâmetro Re obtido por este modelo foi considerado nos cálculos de Ke (equação 4.21) para o estudo termodinâmico e estimativa de ΔH , ΔS e ΔG (equações 4.19 e 4.20) para os

processos de extração de proteínas dos farelos de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba.

A Tabela 36 apresenta os valores calculados para K_e , nas diferentes temperaturas investigadas, para os três farelos de onde as proteínas foram extraídas.

Tabela 36- Valores de K_e para diferentes temperaturas investigadas para farelos de amendoim, de amendoa e polpa de macaúba.

Temperatura (K)	Ke		
	Amendoim	Amêndoa	Polpa
298,15	11,50	2,45	8,09
308,15	15,67	4,00	24,00
318,15	49,02	7,33	99,00

A partir dos valores de K_e apresentados na Tabela 36, para as diferentes temperaturas, foi possível construir o gráfico de $\ln K_e$ versus $1/T$, que descreve a reta dada pela equação 4.19 de onde se pode obter o coeficiente angular ($\Delta H/R$) e o linear ($\Delta S/R$).

A variação de energia livre de Gibbs, ΔG (kJ.mol^{-1}), foi calculada para cada temperatura investigada, considerando os parâmetros estimados anteriormente de ΔH e ΔS , considerando a equação 4.20.

Nas Figuras 46 a 48 são apresentados os ajustes da equação 4.19 aos dados experimentais obtidos para a extração de proteínas a partir dos diferentes farelos investigados.

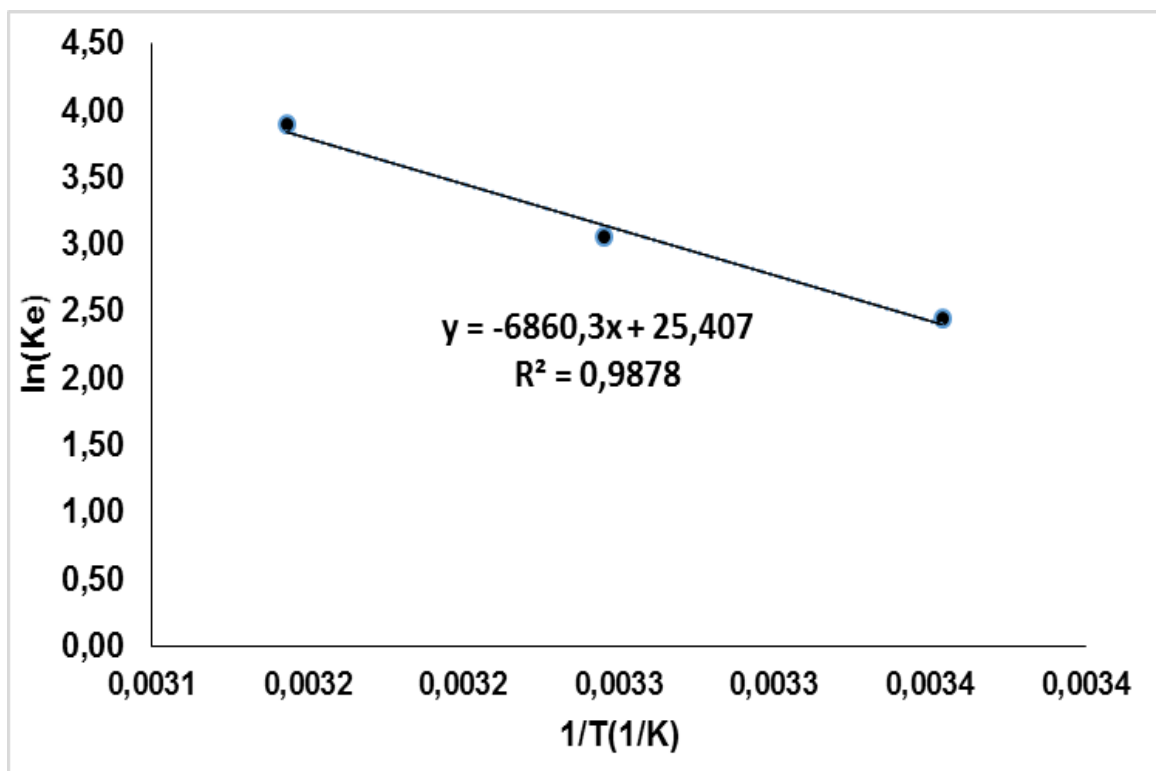


Figura 46- Ajuste do modelo termodinâmico de extração de proteínas a diferentes temperaturas, para os farelos de amendoim.

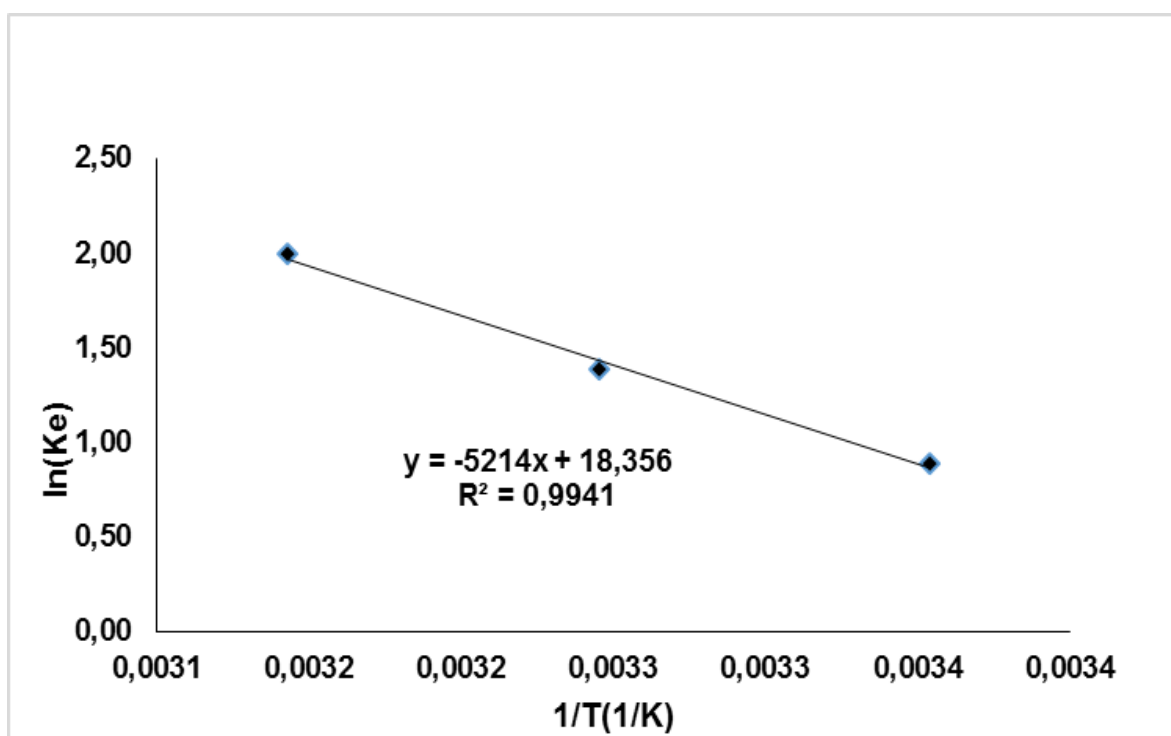


Figura 47- Ajuste do modelo termodinâmico de extração de proteínas a diferentes temperaturas, para os farelos da amêndoa de macaúba.

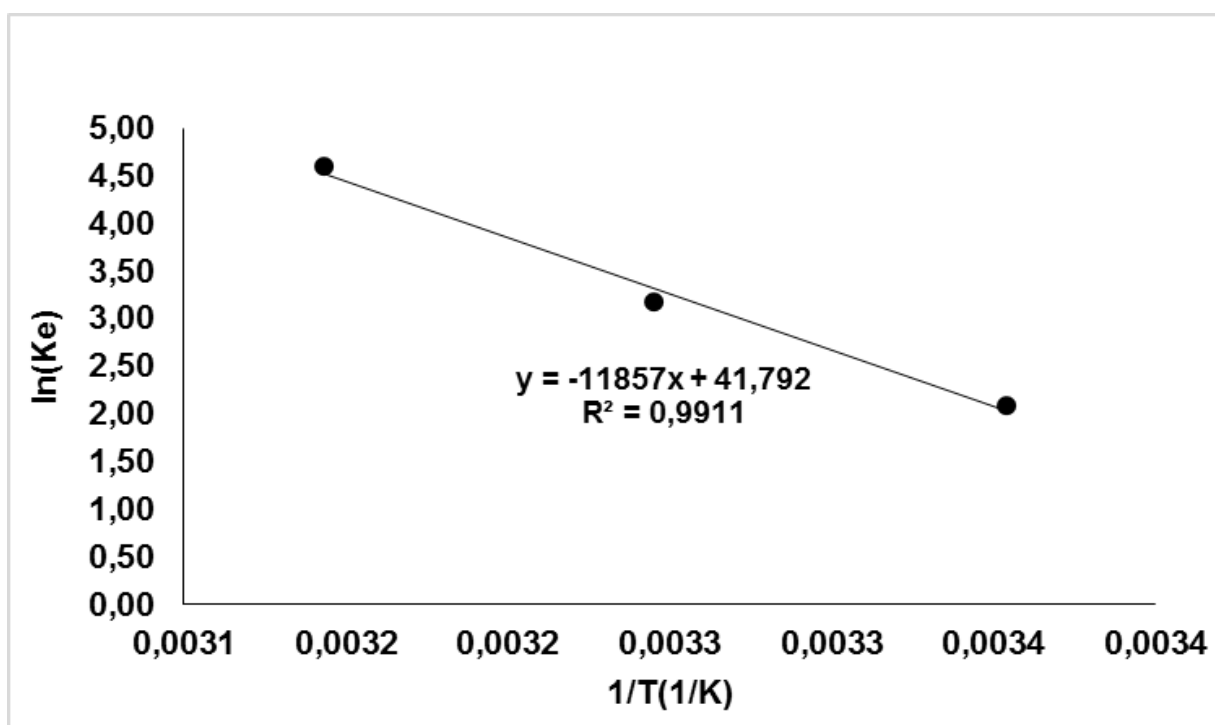


Figura 48-Ajuste do modelo termodinâmico de extração de proteínas a diferentes temperaturas, para os farelos da polpa de macaúba.

Nota-se de um modo geral nas Figuras 46 a 48 que o aumento da temperatura proporciona aumento no valor de $\ln(K_e)$, ou seja, o aumento de temperatura favoreceu a extração de proteínas, contudo, este aumento ocorreu de forma diferente para a extração das proteínas a partir dos diferentes farelos.

A Tabela 37 apresenta os valores obtidos para os parâmetros termodinâmicos da extração de proteínas dos diferentes farelos, assim como os respectivos coeficientes de correlação (R^2).

Tabela 37- Parâmetros termodinâmicos da extração de proteínas dos farelos de amendoim, polpa e amêndoa de macaúba.

Amostras	Parâmetros Termodinâmicos					
	ΔH (kJ/mol)	ΔS (kJ/mol. °K)	ΔG (kJ/mol)			R^2
		298,15 K	308,15K	318,15K		
Amendoim	57,036	0,211	-5,94	-8,05	-10,17	0,9878
Polpa	98,58	0,347	-5,01	-8,49	-11,96	0,9911
Amêndoa	43,35	0,153	-2,15	-3,68	-5,20	0,9941

Observados os valores de R^2 apresentados na Tabela 37 pode-se afirmar que o modelo termodinâmico se ajustou bem aos dados experimentais, sendo obtido um valor de R^2 de no mínimo 98%, dentro da faixa reportada na literatura variando de 77 a 99% (CHAN *et al.*, 2014; KOSTIC´ *et al.*, 2014; SAXENA *et al.*, 2011; ZHONG *et al.*, 2014)

Os valores positivos para a variação de entalpia e entropia e energia livre de Gibbs indicaram que para todos os farelos, a extração de proteínas foi um processo endotérmico, irreversível e espontâneo, ou seja, favorecido pelo aumento da desordem com o aumento da temperatura, o que foi observado no comportamento das curvas cinéticas.

Os valores de variação de entropia não foram muito diferentes, contudo, maior valor indica maior tendência de extração das proteínas, ou seja, para o farelo de amêndoa a tendência de extração foi menor, corroborando os dados cinéticos. A variação de entalpia e da energia livre de Gibbs para a extração de proteínas dos diferentes farelos foi influenciada pelo tipo de farelos. Para a polpa, onde a variação de entalpia foi maior, este processo absorveu maior quantidade de energia para ocorrer a extração, o que refletiu na melhor tendência de extração.

Com relação à variação da energia livre de Gibbs, notou-se para todos os casos, que este valor foi negativo e aumentou em módulo com o aumento da temperatura, isso indica que o processo de extração de proteínas, a partir dos farelos, foi espontâneo e favorável, devido ao aumento da temperatura, o que foi confirmado pelo valor de ΔH e os dados cinéticos experimentais.

De um modo geral, notou-se que para os farelos de amendoim e polpa os valores de ΔG são menores se comparado aos valores para a amêndoa, isso reflete o quanto favorável foi a extração de proteínas para estes farelos, o que foi observado nos dados cinéticos experimentais, a partir da cinética rápida de extração, juntamente com maiores rendimentos de extração.

Contudo, apesar de menos favorável a extração de proteínas do farelo de amêndoa, o que corrobora o menor valor de ΔS para esta matriz, nota-se que o aumento de temperatura gera uma diminuição no valor de ΔG da mesma proporção

que a observada para o farelo de polpa, sendo o efeito do aumento da temperatura muito significativo para o aumento da extração de proteínas a partir dos farelos de macaúba, o que reflete na cinética significativamente mais rápida de extração para o farelo de amêndoa a 45°C. Mais uma vez, destaca-se a importância de realizar os estudos cinéticos e termodinâmico, caso a caso, respeitando as particularidades das diferentes matrizes e solutos extraídos, refletindo no melhor delineamento do processo e equipamentos para cada matéria prima e processo de extração.

Como forma de comparação dos dados termodinâmicos obtidos para os farelos investigadas e os dados encontrados na literatura para a extração de diferentes biocomponentes de matrizes vegetais, a Tabela 38 apresenta um resumo dos parâmetros termodinâmicos encontrados na literatura.

Tabela 38- Parâmetros termodinâmicos encontrados na literatura para a extração sólido-líquido de biocomponentes a partir de matrizes vegetais.

Matriz vegetal	Soluto extraído	Temperatura (K)	ΔH (KJ/mol)	ΔS (KJ/mol)	(ΔG) (KJ/mol)	Referencias
Caragana (<i>korshinskii</i> Kom.)	Proteínas	293 a 313	21,08	0,085	-3,77 a - 5,46	Zhong <i>et al.</i> (2014)
	K	296 a 353	11,50	0,043	-3,8 a - 1,3	
Folhas de Galium mollugo	Ca	296 a 353	4,90	0,016	-0,97 a - 0,02	Milic <i>et al.</i> , (2014)
	Mg	296 a 353	4,00	0,013	-0,87 a - 0,08	
	Gossipol	288 a 318	27,8	0,123	-7,55 a - 12,12	
Sementes de algodão	Óleo	288 a 318	57,33	0,277	-21,0 a - 10,4	Saxena <i>et al.</i> (2011)
Torta de Oliva	Óleo	293 a 323	12,90	0,059	-6,3 a - 4,5	Meziane e Kadi, (2008)
Cânhamo	Óleo	293 a 343	6,17	0,033	-5,17 a - 3,52	Kostic <i>et. al.</i> (2014)
Soja	Óleo	298,15 a 328,15	95,01	0,320	-11,61 a - 0,41	Dagostin <i>et. al.</i> (2015)

Os parâmetros termodinâmicos apresentados na Tabela 38, embora sejam reportados considerando biocomponentes diferentes de proteínas, entre outras característica do sistema de extração como, tamanho de partículas, tipo de solvente, tempo de extração e razão sólido:solução de extração, nota-se que os valores obtidos para a extração de proteínas no presente trabalho são condizentes com os apresentados na Tabela 37.

De um modo geral, os processos de extração sólido-líquido de biocomponentes, a partir de matrizes vegetais, demonstram ser favoráveis, endotérmicos e espontâneos, com pequenas variações nos parâmetros termodinâmicos, dependendo da técnica de extração empregada, matriz e soluto a ser extraído.

Deste modo, os resultados apresentados neste capítulo para a extração de proteínas a partir de resíduos agroindustriais como os farelos de amendoim e de polpa e amêndoa de macaúba, contribuem e apontam para o delineamento de um possível processo para uso e agregação de valor aos farelos de oleaginosas, como fontes alternativas de proteínas vegetais, visando diversificação econômica e comercial para as indústrias que processam óleos vegetais e as que utilizam proteínas para diferentes aplicações.

6. CONCLUSÃO

Apesar do amendoim ser uma matéria prima muito estudada e apontada como uma das principais fontes de proteína vegetal, nenhum estudo foi encontrado na literatura a cerca do modelamento da cinética de extração de proteínas e do comportamento termodinâmico do processo. Conseguiu-se com o presente estudo alargar a base de dados e pesquisas com relação esta matéria prima. Adicionalmente, o processo de extração de proteínas também foi investigado para os farelos de polpa e amêndoa de macaúba, matéria prima pouco investigada com relação ao seu aproveitamento como fonte de proteínas vegetais.

Assim, foi possível observar que o aumento da concentração salina na solução de extração contribui positivamente para o aumento do rendimento, mesmo nas baixas concentrações investigadas. A temperatura também exerceu um papel importante na extração, sendo que a temperatura de 35°C foi suficiente para atingir bons rendimentos, não sendo necessário o dispêndio maior de energia, conforme pode também ser observado nos resultados do capítulo 3, de otimização dos parâmetros de processo.

De um modo geral, pode-se perceber que o comportamento cinético da extração das proteínas do farelo de amendoim foi muito semelhante ao comportamento observado para a extração a partir do farelo de polpa, onde bons rendimentos são obtidos e menos se percebe a influência da temperatura e concentração salina no aumento do rendimento. Contudo, para o farelo de amêndoa notou-se grande influência dos parâmetros de processo investigados, sendo observado comportamento para a extração da proteína um pouco diferente do obtido para os demais farelos.

Acredita-se que além da diferente composição em fibras e carboidratos, a composição em proteínas, também pode influenciar no processo de extração das mesmas. Isso se tornou evidente, pois nas curvas de solubilidade para as proteínas das diferentes matrizes, notou-se que apesar do comportamento das curvas para o farelo de amendoim e amêndoa ser semelhante, as proteínas do farelo de polpa solubiliza-se bem em diferentes pHs e concentrações salinas se comparado as proteínas do farelo de amêndoa. Portanto, maior rendimento e facilidade de extração

das proteínas são observados nos dados cinéticos da extração de proteínas do farelo de polpa em diferentes condições.

Todos os modelos cinéticos empregados apresentaram bom desempenho na descrição do comportamento do processo de extração de proteínas a partir dos farelos, sendo obtidos R^2 acima de 95% para a maioria dos casos. Os parâmetros obtidos para os diferentes modelos são coerentes aos encontrados na literatura, embora pouca informação a cerca da extração de proteínas a partir de matrizes vegetais tenha sido encontrada para comparação.

Tanto o aumento da concentração salina da solução quanto a temperatura favoreceram o processo, não sendo necessário o emprego de concentrações acima de $0,06 \text{ mol.dm}^{-3}$ e temperaturas acima de $45 \text{ }^\circ\text{C}$, para se obter rendimentos de extração, muito próximos aos 100%. Isso demonstra que pequenas modificações nos parâmetros de processo, com pequena demanda energética e de insumos foi possível extrair proteínas de matrizes vegetais de forma eficiente e com rendimentos razoáveis.

No estudo termodinâmico da extração de proteínas a partir dos farelos pode ser observado que o processo é espontâneo, endotérmico e favorável. Nota-se que os dados de variação de entropia apontam para uma extração menos favorável das proteínas da amêndoa, o que pode ser confirmado pelo menor rendimento de extração dentre os farelos investigados. Além disso, apesar do aumento de temperatura favorecer a extração de proteínas na amêndoa, o valor de ΔG é menos negativo se comparado aos outros farelos, confirmando também a extração menos favorecida para as proteínas da amêndoa de macaúba.

De um modo geral, os dados obtidos foram satisfatórios e relevantes para o delineamento de processos industriais que visam o aproveitamento integral e eficiente do potencial proteico das tortas residuais do processamento de óleos vegetais.

**CAPITULO V: EXTRAÇÃO AQUOSA ASSISTIDA POR ENZIMAS DE
PROTEÍNAS DOS FARELOS DE AMENDOIM E AMÊNDOA DE
MACAÚBA**

1. INTRODUÇÃO

De um modo geral, muitos processos químicos convencionais empregados na indústria vêm sendo substituídos por processos biotecnológicos, onde células ou enzimas são utilizadas como forma de transformação de matérias primas em produtos, principalmente devido às vantagens associadas aos processos biotecnológicos, quando comparados aos químicos. O avanço da engenharia genética vem permitindo que os processos biotecnológicos se tornem cada vez mais viáveis do ponto de vista econômico e industrial (FREITAS *et. al.*, 2015).

Os processos enzimáticos, por exemplo, são considerados eficientes, rápidos e ambientalmente sustentáveis se comparados aos processos que utilizam catalisadores químicos. De acordo com SARI (2015), as principais vantagens no uso de enzimas são as condições moderadas de temperatura e pH em que estas reações são conduzidas, gerando economia de energia, maior segurança na condução das reações, além de aumentar a vida útil dos equipamentos, outra vantagem está associada a especificidade das reações enzimáticas, o que resulta em processos mais eficientes e com ótimos rendimentos, pois reduz-se o risco da ocorrência de reações paralelas indesejáveis que consomem os reagentes para a formação de subprodutos, sendo estes muitas vezes de difícil purificação.

Além disso, as enzimas sendo reagentes biológicos são de fácil inativação e biodegradáveis, o que torna os processos enzimáticos mais sustentáveis com a mínima geração de efluentes tóxicos ou passíveis de tratamento (LIU *et al.*, 2016; LATIF & ANWAR, 2009).

À exemplo dos processos de extração de biomoléculas de matrizes sólidas, as enzimas também podem ser empregadas a fim de auxiliar no processo de extração, visando essencialmente aumentar o rendimento do processo, através da degradação enzimática de estruturas e moléculas que compõem a matriz sólida expondo as biomoléculas de interesse para uma extração mais eficiente (AZMIR *et al.*, 2013; MONTEIRO & SILVA, 2009).

A literatura reporta o uso de enzimas em processos de extração de proteínas, óleos vegetais e outros componentes presentes em diferentes matrizes sólidas, com

destaque para resíduos e subprodutos oriundos de processamento agroindustrial, como as tortas e os farelos do processamento de oleaginosas (SARI, 2015; TABTALBAEI & DIOSADY, 2013).

Segundo CAPOBIANGO *et al.* (2006) e VIEIRA *et al.* (2008), o uso de enzimas na extração de proteínas de matrizes sólidas vegetais é mais vantajoso na comparação com a extração alcalina tradicionalmente utilizada. A extração alcalina é um processo que causa reações secundárias indesejáveis, como a reação de *Maillard*, provocando a formação de compostos indesejáveis e com potencial tóxico, como a lisinoalanina, com consequências sobre a redução do valor nutritivo das proteínas extraídas, além disso, na extração alcalina, componentes não proteicos também são arrastados no processo, o que compromete e diminui a qualidade dos produtos obtidos (CAPOBIANGO *et al.*, 2006; VIEIRA *et al.*, 2008).

Para SCHMIDT & SALAS-MELLADO (2009), empregar enzimas no processo de extração de proteínas ao invés de reagentes químicos, além das vantagens mencionadas, oferece a possibilidade de controle do processo de extração das proteínas, aumentando o rendimento do processo, permitindo ainda, o melhoramento das propriedades funcionais tecnológicas do produto obtido, como a solubilidade, estabilidade, capacidade de formação de espuma, entre outras (STRÖHER *et al.*, 2011; MIRANDA, 2012).

Na indústria de processamento de oleaginosas o processo de extração assistido por enzimas vem sendo empregado na extração simultânea dos óleos vegetais e das proteínas, como uma alternativa tecnológica para os processos convencionais de extração de óleos, que empregam prensas mecânicas, muitas vezes associadas ao baixo rendimento de extração, ou solvente orgânico, principalmente hexano, que associa o elevado risco ao processo de extração devido à inflamabilidade e toxicidade do solvente (LATIF & ANWAR, 2009; LIU *et al.*, 2016; NASCIMENTO, 2015).

Desta forma, o emprego de processos de extração assistidos por enzimas mostra-se vantajoso do ponto de vista industrial, uma vez que associam rapidez ao processo, aliado a elevada qualidade dos produtos obtidos, e menor demanda de recursos naturais como água e energia, na comparação com os processos

convencionais (FREITAS *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016; TABTALBAEI & DIOSADY, 2013).

Contudo, para que o processo enzimático de extração seja uma opção viável industrial, é importante contextualizar e avaliar sua aplicabilidade em diferentes situações de processamento, considerando características como, matéria prima, parâmetros de processo, tipos de enzimas, entre outras. Neste sentido, é importante destacar que o processo enzimático de extração de proteínas a partir de farelos de macaúba não é reportado na literatura, sendo um tema relevante de investigação frente às potencialidades apresentadas pelo processo e pelo resíduo em questão.

2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.Enzimas e sua utilidade em processos Industriais

Enzimas são proteínas especializadas na catálise de reações biológicas com objetivo de acelerar a velocidade da reação. São produzidas e extraídas de organismos vivos como células animais, vegetais e microbianas. As enzimas vêm sendo utilizadas como catalisadores naturais em vários processos industriais, em substituição aos catalisadores químicos, por serem consideradas mais eficientes e ambientalmente sustentáveis (LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016; 2012; MONTEIRO & SILVA, 2009).

Devido à ampla aplicabilidade das enzimas em nível industrial, diversos tipos de enzimas são e vêm sendo disponibilizadas comercialmente para atender diferentes aplicações, processos e produtos. As enzimas são classificadas de acordo com os mecanismos da sua ação pela União Internacional da Bioquímica (IUB) de acordo com LIU *et al.*, (2016), MONTEIRO & SILVA (2009) e WHITEHURST & OORT (2010) em seis grandes grupos, nomeadamente:

- Oxirredutases - enzimas que catalisam reações de transferência de elétrons em diferentes grupos funcionais. Destacam-se as desidrogenases e oxidases como glucose-oxidase, lactase, lipoxigenase, peroxidases e lacases.
- Transferases - enzimas que catalisam reações de transferência de grupamentos funcionais como grupos amina, fosfatos, acil, carboxil. Destacam-se as quinases, transminases.
- Hidrolases - enzimas que hidrolisam as ligações covalentes. São as amilases, celulases, fosfatases, hemicelulases, lactases, lipases, pectinases, proteases, pululanases,
- Liasas - enzimas responsáveis por catalisar reações de quebra de ligações covalentes e a remoção de água, amônia e gás carbônico. Destacam-se as desidratases, descarboxilases, fumarases.

- Isomerases – enzimas que catalisam reações de interconversão entre isômeros óticos e geométricos, destacando-se as espimerases, racemases, mutases.
- Ligases – enzimas que catalisam as reações de formação de novas moléculas a partir de duas já existentes, também são denominadas de sintetases, destacando-se as polimerases, glutaminases.

Segundo LIU *et al.* (2016), MONTEIRO & SILVA (2009) e WHITEHURST & OORT (2010) dentre todos os grupos de enzimas, as hidrolases são as mais empregadas industrialmente. Por exemplo, na indústria de alimentos os processos enzimáticos são conhecidos e empregados há bastante tempo, desde 1874 a renina animal é utilizada na produção de queijos, sendo substituída atualmente, em grande parte pela renina de origem microbiana. Atualmente, muitas enzimas utilizadas industrialmente são produzidas a partir de microrganismos recombinantes, com destaque para as proteases e α -amilases que são obtidas de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*.

Na indústria de panificação, as enzimas α -amilase são utilizadas para promover a decomposição de amido o que leva a formação de maltose o que aumenta a maciez e textura da massa e do miolo do pão, aumentando a vida de prateleira do produto. Ainda na panificação a xilanase é usada para dar estabilidade à massa do pão, a protease altera a elasticidade e textura do glúten, melhora a cor e o sabor do pão. Na indústria de processamento de amido são usadas enzimas como glicose-isomerase, α -amilases e β -amilases entre outras, com objetivo de converter amido em dextrose ou xaropes ricos em açúcares simples. As amilases de origem bacteriana que são consideradas muito estáveis com a variação da temperatura são muito usadas na hidrólise do amido para diminuição da viscosidade durante o preparo de massas doces para bolos e biscoitos (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; LIU *et al.*, 2016; MONTEIRO & SILVA, 2009; WHITEHURST & OORT, 2010).

Na indústria de processamento de leite, além da renina, lípases e lactase são utilizadas para promover a coagulação do leite e decompor a lactose em açúcares mais simples, modificando e melhorando as características dos produtos lácteos. Na indústria de processamento de carnes, são usadas com frequência as proteases

vegetais como a papaína, bromelina e ficina no amaciamento de carnes (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; LIU *et al.*, 2016 MONTEIRO & SILVA, 2009).

Na indústria de processamento de sucos, as enzimas do tipo pectinases são empregadas para facilitar a extração, clarificação e filtração dos sucos através de desestabilização de substâncias flocculantes, facilitando a coagulação e precipitação. A celulase é utilizada na liquefação do tecido vegetal o que permite extrair mais suco e pigmentos das frutas. A glicoamilase atua na decomposição do amido para evitar a turvação e gelatinização durante o processamento dos sucos (LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016; MONTEIRO E SILVA, 2009).

Na indústria de bebidas destiladas a α -amilases e a glicoamilases são usadas para degradar o amido. Na produção de vinhos, as pectinases e proteases são usadas para facilitar a prensagem, filtração, clarificação e reduzir o tempo de processamento. Na indústria de processamento de cervejas são usadas várias enzimas com destaque para as α -amilases e as glicoamilases, para aumentar o teor de açúcares no mosto a ser fermentado, as glucanases com a função de facilitar o processo de filtração; as pentosanas para remover compostos indesejáveis e as proteases vegetais como papaína e bromelina que evitam a turbidez da cerveja (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; LIU *et al.*, 2016 MONTEIRO & SILVA, 2009).

Na indústria de produção de rações, devido à presença de componentes pouco digeríveis pelos animais nas formulações, as enzimas são utilizadas para aumentar a biodisponibilidade dos nutrientes e melhorar a digestibilidade dos componentes da ração, as xilanases, as fitases e proteases são as mais comumente empregadas (JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013; LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016).

Na indústria de papel e celulose, as enzimas vêm sendo empregadas visando reduzir a utilização de reagentes químicos no processamento da polpa de papel, melhorando a qualidade do papel e minimizando a geração de efluentes. As enzimas mais empregadas são as xilanases, lacases e peroxidases para o branqueamento da polpa do papel, as lipases para a remoção de resinas naturais e as pectinases para despolimerizar substâncias pécticas (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015;

JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013; LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016 MONTEIRO & SILVA, 2009).

Com o mesmo propósito de tornar o processo mais eficiente e sustentável, a indústria têxtil e de couro vêm utilizando várias enzimas nas diferentes etapas de processamento em substituição aos reagentes químicos. Assim, as lipases são usadas para remover lubrificantes e gorduras e melhorar a estrutura do poliéster, as lacases para o alveijamento do algodão e no tratamento dos efluentes, as proteases para impedir o encolhimento de feltro, melhorar a qualidade de tingimento e o brilho dos tecidos e degradar proteínas e pelos do couro, as amilases no processo de degomagem, as xilanases no processo de branqueamento e as pectinases para degradar a pectina que recobre as fibras de celulose. Contudo, as celulases são as principais enzimas utilizadas no processamento de algodão (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; LIU *et al.*, 2016 MONTEIRO & SILVA, 2009; JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013).

Na indústria de química fina que é considerada a grande fornecedora de insumos à indústria de fármacos e cosméticos é a que mais evolui no sentido de desenvolver processos onde as enzimas são utilizadas para a produção de diversos produtos. Na indústria de fármacos, inúmeras enzimas são usadas para produção de medicamentos e desenvolvimento de novos e diversos produtos com destaque para as proteases vegetais (papaína e bromelina), as amilases, lipases e pepsinas que entram como componentes de vários medicamentos (JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013; LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016; MONTEIRO & SILVA, 2009).

Na indústria de cosméticos e detergentes se destaca o emprego das proteases, glicoamilases, lipases, lactase e celulases utilizadas na formulação de diversos cosméticos com diferentes funções, com destaque para os produtos de tratamento para os cabelos, pele, estrias, controle de oleosidade e placa dentária. Na formulação de detergentes e sabões, as enzimas como as proteases, lipases, amilases e celulases são usadas em pequenas quantidades nas formulações dos produtos, que atuam com boa eficiência facilitando a limpeza, com menor prejuízo ao meio ambiente (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; LIU *et al.*, 2016; MONTEIRO & SILVA, 2009).

Uma área em desenvolvimento quanto ao emprego de enzimas em seus processos é a indústria de biocombustíveis, como a de produção de biodiesel e bioetanol. Neste sentido as lipases e celulasas vêm sendo empregadas na otimização dos processos, garantido produto de qualidade e processos mais sustentáveis e eficientes (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013; LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016).

Outra aplicação industrial das enzimas que vem ganhando destaque é no processamento de óleos e gorduras, onde as enzimas são empregadas no processo simultâneo de extração de óleos e proteínas vegetais. As enzimas do grupo das hidrolases vêm sendo investigadas para aplicação neste processo que ocorre em meio aquoso e apresenta uma série de vantagens quando comparado aos processos tradicionais de extração de óleos, como a qualidade dos produtos e a geração de efluentes com menor impacto ambiental (LIU *et al.*, 2016; CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; WHITEHURST & OORT, 2010).

Neste sentido, as enzimas também estão sendo empregadas em processos industriais diversos, com a finalidade de aumentar a eficiência de aproveitamento das matérias primas agroindustriais, assim como, de reaproveitar os resíduos gerados no processamento agroindustrial, favorecendo a disponibilidade e diversificação na produção de produtos de interesse industrial e comercial. A exemplo dos processos enzimáticos envolvendo matérias primas vegetais, duas principais classes de enzimas são comumente empregadas, as carboidrases e as proteases, com a finalidade de transformar, com diferentes objetivos, biomoléculas complexas como os carboidratos e as proteínas, respectivamente (JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013; LIU *et al.*, 2016; SARI, 2015).

Com relação ao emprego das enzimas nos processos de extração de biocomponentes de matrizes vegetais, as carboidrases auxiliam degradando a estrutura das paredes celulares dos vegetais, liberando para o meio vários componentes intracelulares de interesse, facilitando desta forma, a extração e recuperação destes componentes. Da mesma forma, as proteases auxiliam na extração de peptídeos e aminoácidos, pois através do processo de proteólise, as moléculas de proteínas são degradadas a peptídeos e/ou aminoácidos favorecendo

a solubilidade, e por isso, sua extratibilidade. Adicionalmente, os hidrolisados proteicos obtidos possuem propriedades funcionais tecnológicas e nutricionais diferenciadas (LIU *et al.*, 2016; SARI, 2015; WHITEHURST & OORT, 2010).

Fazem parte das carboidrases as enzimas como as amilases (α e β - amilases, glicoamilases), pectinases, celulasas e hemicelulasas, que são utilizadas não apenas em processos tecnológicos de extração, mas também em processos para aproveitamento e transformação dos carboidratos obtidos de matrizes vegetais, com aplicação em diversas áreas como alimentos e bebidas, fármacos, cosméticos, têxtil e química, conforme anteriormente citado (JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013; LIU *et al.*, 2016; MONTEIRO & SILVA, 2009).

Quanto às proteases, estas podem ser classificadas em: exopeptidases, que atuam nos grupos funcionais ativos localizados na extremidade das cadeias polipeptídicas das moléculas de proteínas, e endopeptidases, que atuam em grupos ativos não terminais da cadeia polipeptídica, ou seja, atuam quebrando ligações peptídicas internas à molécula, e por isso, não são capazes de liberar monômeros ou aminoácidos livres. Do ponto de vista biotecnológico, as endopeptidases são mais empregadas, pois atuam em toda a extensão da molécula de proteína, garantindo maior eficiência no processo e maior rendimento na extração de proteínas, influenciando principalmente na solubilidade dos polipeptídios obtidos (JEGANNATHAN & NIELSEN, 2013; LIU *et al.*, 2016).

Assim como as carboidrases, as proteases também são empregadas em diferentes tipos de indústrias com a finalidade de extrair e/ou transformar as proteínas presente em diversas fontes, modificando suas propriedades e aplicações (LI *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2016; TABTALBAEI & DIOSADY, 2013).

Assim, as proteases são muito usadas na produção de hidrolisados protéicos com objetivo de melhorar a qualidade, valor nutricional e propriedades funcionais e tecnológicas dos peptídeos extraídos, nomeadamente, solubilidade, capacidade emulsificante e de formação de espuma, características estas desejáveis no produto final, principalmente quando os hidrolisados são empregados como ingrediente ou aditivo na formulação de diferentes produtos industriais, com destaque para alimentos com fins especiais e ricos em peptídeos e aminoácidos, como os

destinados para crianças, atletas, idosos ou pessoas com necessidades alimentares específicas (STRÖHER *et al.*, 2011; MIRANDA, 2012; WHITEHURST & OORT, 2010)

2.2. Influência de diferentes fatores na extração de proteínas assistida por enzimas

Assim como no processo de extração de proteínas via química, na via enzimática, diferentes parâmetros de processo influenciam no sucesso da extração, como as características inerentes à matéria prima (composição, propriedades físico-químicas das biomoléculas), que são fundamentais para a escolha adequada das enzimas a serem utilizadas no processo como, o tamanho de partícula da matriz, o tempo e temperatura de processo, a razão enzima:substrato, a razão substrato:solução de extração, a atividade enzimática, o pH do sistema de extração, entre outras. Desta forma, para o melhor delineamento industrial do processo e avaliação dos efeitos dos parâmetros na maximização dos rendimentos de extração, é importante a realização de estudos que viabilizem a otimização dos parâmetros do processo de extração (AZMIR *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2008).

A literatura reporta a influência de alguns parâmetros de processo na extração enzimática de biocomponentes de matrizes vegetais, conforme a seguir se descreve.

2.2.1 Tamanho das partículas

De um modo geral, sabe-se que para qualquer processo de extração sólido-líquido, quanto menor o tamanho de partícula da matriz sólida, melhor é a extração do biocomponentes da matriz para a solução, devido à menor distância e resistência ao transporte tanto da solução extratora para a matriz, quanto dos biocomponentes solubilizados para fora da matriz. Assim, quanto menor à distância a ser percorrida pela solução contendo a enzima até seu substrato e maior área superficial de contato mais eficiente será o processo de extração.

Além disso, a diminuição do tamanho de partícula da matriz sólida expõe e aumenta a superfície de contato com a solução contendo a enzima, o que facilita a ação da enzima e por isso, a extração. Entretanto, o tamanho de partícula ótimo

para cada processo de extração deve ser investigado levando em consideração as características da matéria prima, tipo de enzima, assim como outros parâmetros do processo (LIU *et al.*, 2016, TABTALBAEI & DIOSADY, 2013; SARI, 2015).

2.2.2 pH

A escolha do pH ótimo do sistema não afeta apenas a atividade da enzima, mas também a solubilidade e separação dos diferentes componentes que compõe a matriz sólida.

Estabilidade enzimática é uma função do pH do meio, assim como da temperatura. Logo, a enzima pode ter sua ação catalítica diminuída ou até mesmo anulada (desnaturada), se o pH do meio reacional estiver fora da faixa ideal para ação da enzima. A faixa de pH ótimo para ação das enzimas varia muito dependendo do tipo de enzima, além disso, a maior parte das enzimas são ativas numa faixa de pH muito estreita, apesar de existirem enzimas que toleram grandes mudanças de pH. Portanto, o pH é um parâmetro de processo que deve ser ajustado e controlado nos processos enzimáticos.

De acordo com FELLOWS (2000), a atividade catalítica das enzimas está relacionada à ionização de aminoácidos presentes nos sítios ativos das enzimas, dependendo das características de pH do meio. Desta forma, as mudanças no pH do meio afetam a capacidade de ligação dos substratos aos sítios ativos, pois altera a capacidade de ionização dos reagentes envolvidos (enzima, substrato). As alterações nos grupos ionizáveis, gerada pelas mudanças drásticas de pH do meio, também pode modificar a estrutura terciária das enzimas, com consequente desnaturação das mesmas.

No processo de extração de proteínas empregando-se enzimas, além da atividade enzimática, o pH do sistema influencia na solubilidade das proteínas e peptídeos, consequentemente, interfere na separação e extração das proteínas dos demais componentes da matriz. Desta forma, conhecer a composição da matriz sólida, assim como os tipos de proteínas ou aminoácidos que compõe as mesmas auxilia na seleção de enzimas mais adequadas às condições e objetivos dos processos de extração.

2.2.3 Temperatura

Assim como visto para o efeito do pH na atividade enzimática, cada enzima possui uma faixa ótima de temperatura para trabalho, onde sua atividade catalítica é máxima, no entanto, fora desta faixa, a enzima pode ser inativada (desnaturada) ou ter sua atividade diminuída. Desta forma, a escolha e manutenção da temperatura de processo, onde enzimas são utilizadas, é de fundamental importância. De um modo geral, a maioria das proteases podem atuar bem na faixa de temperatura entre 45 a 70 °C (BOYE & BARBARA, 2012; LIU *et al.*, 2016; SARI, 2015).

A inativação da enzima devido à desnaturação pelo calor está relacionada à perda da conformação estrutural estável da molécula, devido ao rompimento principalmente de pontes de hidrogênio que mantêm a estrutura nativa da molécula, a qual confere à enzima sua propriedade catalítica.

Contudo, cada enzima exibe um comportamento único perante as diferentes características do meio. Desta forma, a composição do meio pode interferir na estabilidade térmica das enzimas. Sabe-se que na presença do substrato ou inibidores, a estabilidade térmica das enzimas pode aumentar, justamente porque estes componentes do meio auxiliam na estabilização da estrutura nativa da molécula ao redor do sítio ativo.

De um modo geral, a temperatura ótima para atividade de uma enzima resulta de efeitos líquidos da temperatura sobre a ativação e inativação da enzima. A variação da atividade enzimática em função da temperatura pode resultar no aumento da agitação das moléculas devido à elevação da temperatura, com aumento na probabilidade de colisões efetivas entre o substrato e a enzima, e aumento na cinética da reação. Contudo, a elevação de temperatura, a partir de certos valores, também pode provocar a desnaturação das enzimas, desta forma, se a cinética de inativação enzimática torna-se significativa, conforme a temperatura aumenta, o saldo cinético global resulta em uma menor velocidade para a reação enzimática, prejudicando o processo e ação enzimática (DAMODARAN *et al.*, 2010; WHITEHURST & OORT, 2010b).

2.2.4 Razão sólido:solução extratora

A razão sólido:solução extratora é um parâmetro a ser considerado, principalmente, porque influencia na capacidade máxima de solubilização ou extração do biocomponente da matriz sólida para o meio líquido de extração. Maior volume da solução extratora é considerado como sendo favorável no processo de extração, contudo, aumenta o volume líquido a ser purificado, além de gerar maior volume de efluente líquido a ser tratado ao final do processo, acarretando em maiores custos de processo.

Além disso, a quantidade de solução aquosa extratora influencia na atividade enzimática e nas quantidades de enzima a ser utilizada, portanto, a razão sólido:solução extratora é um parâmetro importante a ser controlado no processo de extração enzimática. A literatura reporta o emprego de razões da ordem de 1:5 até 1:50, dependendo do processo de extração (LIU *et al.*, 2016, TABTALBAEI & DIOSADY, 2013; SARI, 2015).

2.2.5 Proporção enzima:substrato e tempo de incubação

A velocidade catalítica da enzima é diretamente proporcional à quantidade de enzima utilizada no sistema. Contudo, a presença de alguns agentes ou substâncias indesejáveis podem limitar a atividade da enzima. A atividade enzimática é a medida da máxima velocidade de reação catalisada pela enzima, por ml ou grama de extrato enzimático. De um modo geral, por ser um catalisador, as enzimas não precisam ser empregadas em grandes quantidades nos sistemas reacionais. A literatura reporta que processos enzimáticos empregam quantidade de enzima em uma proporção de até 5% (v/m) em relação ao substrato (JIANG *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2016; SARI, 2015; WHITEHURST E OORT, 2010).

Uma vantagem do emprego de enzimas em processos industriais é a não necessidade de processos posteriores para a extração da enzima do sistema, pois uma vez inativada e considerando a quantidade insignificante utilizada, sua presença não interfere na qualidade e características do produto final (NASCIMENTO, 2015; SARI, 2015; WHITEHURST E OORT, 2010).

Outro parâmetro que influencia diretamente na eficiência de ação das enzimas, ou grau de hidrólise, e conseqüentemente, nas propriedades do produto final, no rendimento, nos custos operacionais e na viabilidade do processo, é o tempo de processo. Quando excessivamente longo, o tempo de processo pode impactar na produtividade e custos operacionais do processo, no entanto, quando muito curto, pode comprometer o rendimento e a ação eficiente das enzimas.

Contudo, é importante mencionar que o tempo de processo ideal está intimamente ligado com outros parâmetros de processo e características relacionadas ao sistema e ao processo em si. Portanto, para melhores resultados, o tempo, assim como outros parâmetros de processo devem ser otimizados caso a caso, considerando o tipo de matéria-prima, a enzima utilizada e objetivo do processo (BOYE E BARBARA, 2015; DAMODARAN et al., 2010; SARI, 2015).

Para a maioria dos processos de extração de proteínas de matriz vegetal empregando enzimas, a literatura reporta o emprego de enzima na proporção entre 1 e 5% (v/m) com relação a quantidade de substrato a ser tratada, o uso de proteases ativas em pH alcalino, temperatura de extração entre 0 e 70 °C e tempo de processo de até 4 horas (BOYE e BARBARA 2012; LIU *et al.*, 2016; TABTALBAEI & DIOSADY, 2013, SARI, 2015).

2.3. Algumas proteases usadas no processo de extração de proteínas

Conforme anteriormente descrito, nos processos de extração e/ou transformação de biomoléculas, diferentes tipos de enzimas podem ser empregadas. No caso da extração de proteínas de matrizes vegetais, as hidrolases como as proteases e as carboidrases são geralmente muito utilizadas. Estas enzimas agem facilitando o processo de extração. No entanto, quando a matriz vegetal é preparada ou processada de alguma forma, antes do processo enzimático, as transformações ocorridas na matriz devido aos pré-processamentos podem facilitar a ação das enzimas ou até mesmo não demandar o emprego de ambas, como ocorre no caso das tortas de oleaginosas obtidas após prensagem mecânica (MIRANDA, 2012; NASCIMENTO, 2015).

No processo de extração mecânica de óleos, a matriz sólida é prensada o que gera rompimento das células vegetais, expondo e liberando o seu conteúdo. Neste caso, tanto óleo quanto proteínas são liberadas, não sendo necessário tratar a matriz com carboidrases para rompimento da estrutura das células vegetais. Contudo, se o objetivo é extrair mais facilmente as proteínas da matriz e adicionalmente promover transformações nas moléculas de proteínas, produzindo extratos proteicos com características diferenciadas, as proteases podem ser utilizadas, a fim de obter-se hidrolisados proteicos (MIRANDA, 2012; NASCIMENTO, 2015; NOVOZYME, 2015).

Portanto, os hidrolisados proteicos são considerados produtos constituídos por uma mistura complexa de peptídeos de vários tamanhos, que em sua maioria apresentam propriedades funcionais tecnológicas e nutricionais relevantes para a aplicação na indústria de alimentos, cosméticos, fármacos e química, sendo empregado como ingrediente nutracêutico, funcional, estabilizante, emulsificante, entre outros. Os hidrolisados podem ser obtidos por processos químico ou enzimático, sendo que os produtos obtidos por via enzimática apresentam maior qualidade, pureza e funcionalidade, além de ser ambientalmente mais sustentável (MIRANDA, 2012; NASCIMENTO, 2015; SARI, 2015).

Portanto, o emprego de proteases na extração de proteínas atua transformando a molécula de proteína, uma vez que a mesma é hidrolisada a peptídeos menores, os quais possuem menor impedimento à transferência de massa e maior solubilidade em sistemas aquosos variados, o que facilita a extração (MIRANDA, 2012; NASCIMENTO, 2015)

As proteases classificadas como endopeptidases são as mais comumente empregadas na indústria, pois são mais eficientes por atacar as ligações peptídicas em aminoácidos não terminais. Estas por sua vez podem ser classificadas em: *Serina-protease*, cujo pH ótimo de ação encontra-se na região alcalina, *Cisteína-protease*, com atividade ótima próximo do pH neutro, *Aspártico-protease*, com atividade ótima na região de pH ácido e *Metallo-proteases*, cuja atividade ótima situa-se na região próximo de pH neutro (CHRISTOPHER & KUMBALWAR, 2015; JISHA *et al.*, 2013; WHITEHURST & OORT, 2010).

Dentre as proteases mais utilizadas industrialmente para obtenção de hidrolisados proteicos pode-se citar a Alcalase, uma serina protease do tipo endopeptidase produzida através da tecnologia de fermentação submersa a partir de microrganismos do *Bacillus licheniformis*, considerada altamente eficiente e aplicável na hidrólise de proteínas de diversas fontes tanto vegetal, quanto animal. Como referido acima, atua em diferentes sítios internos da cadeia polipeptídica atacando os sítios ativos onde o aminoácido serina está presente. Ela desempenha a sua atividade ótima nas condições de pH de 6 a 11 e temperatura entre 45 a 70. Por isso, é muito utilizada na indústria de alimentos, de detergente e nos processos biotecnológicos de extração de proteínas e componentes bioativos (MIRANDA, 2012; NOVOZYME, 2015; SCHMIDT & SALAS-MELLADO, 2009).

A Flavourzyme é um complexo de protease/peptidase comercial de origem fúngica, produzida como a Alcalase, a partir de linhagens de *Aspergillus oryzae*. Também vem sendo apontada como excelente enzima na produção de hidrolisados proteicos para a indústria de alimentos, a partir de soja e amendoim, atuando em faixa de pH neutro com tendência à ácido (MIRANDA, 2010; NASCIMENTO, 2015; NOVOZYME, 2015; SCHMIDT & SALAS-MELLADO, 2009).

As proteases de origem vegetal também são muito utilizadas em processos de hidrólise considerados de baixo custo, são muito empregadas no processamento de cerveja para hidrolisar peptídeos, favorecendo a solubilidade dos mesmos no meio aquoso, importante para a formação de espuma na cerveja. Dentre as principais proteases de origem vegetal tem-se a papaína que é extraída do mamão (*carica papaya*), a bromelina do abacaxi (*ananás comosus*) e a ficina do figo (*ficus carica*). Todas são classificadas como endopeptidases do tipo cisteínas-proteases, contêm grupo sulfidríla (-SH) no sítio ativo e hidrolisam as ligações peptídicas adjacentes a aminoácidos hidrofóbicos e aromáticos como a fenilalanina, valina e leucina (MIRANDA, 2012; NASCIMENTO, 2015; SCHMIDT & SALAS-MELLADO, 2009).

Com relação as proteases de origem animal, estas são menos empregadas no processo de extração de proteínas vegetais, sendo reportado o uso da pancreatina, um extrato enzimático contendo diferentes tipos de enzimas, entre elas,

tripsina, amilases e lípases, obtida do pâncreas de animais (JISHA *et al.*, 2013; WHITEHURST & OORT, 2010).

A literatura reporta ainda, o emprego de preparados comerciais contendo mistura de proteases, geralmente de origem microbiana e vegetal, que possuem diferentes aplicações e são produzidas por diferentes empresas como a Novozyme, AB enzymes e Prozyn (CAPOBIANGO, 2006; SARI, 2015).

Diversos trabalhos na literatura reportam o emprego de proteases para a extração e hidrólise de proteínas a partir de diversas fontes vegetais, no entanto, para a matéria prima macaúba nenhum trabalho foi encontrado, tratando do processamento e aproveitamento dos resíduos gerados na extração de óleos para obtenção de produtos proteicos como os hidrolisados.

Segundo SARI *et al.* (2013), a extração de proteínas com adição de proteases comerciais alcalinas do tipo Protex 40 XL, Protex P e Protex 5 L resultou em rendimento de extração de até 90%, 50% e 80 % para o farelo de soja, canola e microalgas, respectivamente. Os parâmetros ótimos de processo que otimizaram o rendimento de extração foram; temperatura de 50 a 60 °C, razão sólido:solução extratora de 1:25 (m/v) e quantidade de enzima de 5% (v/m) em relação ao sólido.

Para a extração de proteínas da farinha de arroz, VIERA *et al.* (2008) mostraram que a melhor condição para a extração enzimática empregando a enzima comercial Protemax 580 L ocorreu na razão sólido:solução extratora de 1:10 (m/v), pH de 10,5, proporção de enzima de 1% (v/m) e temperatura de 50°C. O rendimento máximo de extração foi de 63,4%.

WANG *et al.* (2008) avaliando diferentes proteases para a extração simultânea de óleo e proteínas do amendoim observaram que o rendimento em óleo aumentou de 72% para 92%, empregando a enzima comercial Alcalase 2.4 L. O melhor efeito da Alcalase em comparação a outras proteases pode ser atribuído à hidrólise de membranas que envolvem o conteúdo lipídico, além da membrana citoplasmática, sendo eficaz na produção de pequenos peptídeos. Este efeito permite não só a extração dos compostos proteicos, mas também aumenta a extração de óleos. A extração foi ótima nas condições de temperatura de 60 °C, pH

de 8,5, proporção de enzima de 1,5% (v/m) e tempo de extração de 8 horas. JIANG *et al.* (2010) fizeram estudo semelhante e obtiveram resultados coerentes aos apresentados por WANG *et al.* (2008). No entanto, para o tempo de extração de 5 horas o rendimento em óleo e hidrolisado proteico foi de 78,31% e 71,38%, respectivamente.

ZHAO *et al.* (2013) utilizaram diferentes proteases para pré tratar farelo de amendoim e aumentar a solubilidade das proteínas em posterior extração. Os maiores rendimentos de extração foram observados quando a enzima alcalase foi empregada, em detrimento as enzimas papaína e protamex. Em 1 hora de pre-tratamento com a alcalase, o grau de hidrólise das proteínas do farelo de amendoim foi de aproximadamente 12%. Os autores reportam que para a alcalase, quando um grau de hidrólise de 1% é obtido para as proteínas do farelo de amendoim, um aumento de quase 3,5 vezes é observado para o índice de solubilidade das proteínas.

O efeito da enzima Alcalase na extração de proteínas de farinha de peixe também foi investigado no trabalho de RAMAKRISHNAN *et al.* (2013). Os autores observaram que o maior rendimento do processo foi de 76,3%, obtido na proporção de enzima de 0,5% (v/m), pH de 7,5 e temperatura de 55 °C, para 1 hora de extração, demonstrando a eficiência da enzima Alcalase para a obtenção de hidrolisado proteico de peixe.

YUST *et al.* (2003) estudaram estratégias para melhoramento da extração das proteínas de farelo de semente de girassol através da utilização da enzima Alcalase, em comparação com a extração alcalina. Na extração alcalina o rendimento em proteína extraída foi de 57,5%, enquanto no processo enzimático, o rendimento foi de 87,4% quando uma proporção de enzima de 0,1% (v/m) foi empregada na extração.

SHEN *et al.* (2008) investigaram a extração de proteínas a partir das folhas de chá verde empregando quatro enzimas diferentes (Neutrase, Alcalase, protamex e Flavourzyme) em comparação com a extração via alcalina. O uso das enzimas isoladas resultou em um menor rendimento de proteínas, se comparado a combinação das proteases Alcalase e Protamax, onde o rendimento foi de 47,8%.

Neste caso, os parâmetros de processo otimizados foram: quantidade de enzima 4% (v/m), razão sólido:solução de extração de 1:35, tempo de extração de 4h, pH de 8 e temperatura de 60°C. A qualidade do hidrolisado proteico obtido via enzimática quanto as propriedades funcionais tecnológicas foi superior ao produto obtido pela extração química.

QUIST *et al.* (2009) avaliaram o processo de hidrólise das proteínas presente em amendoim torrado e farinha desengordurada de amendoim. Com relação ao grau de hidrólise das proteínas, a enzima Alcalase demonstrou melhor desempenho quando comparada com a mistura de enzimas pepsina-pancreatina. Foi observado que o hidrolisado obtido com a Alcalase apresentou peptídeos com menor peso molecular, fator importante na solubilidade proteica. Os parâmetros de processo empregados para a extração com Alcalase foram: pH de 7,5; temperatura de 60°C, tempo de extração de 2h; proporção sólido:solução de extração de 1:20 (m:v) e proporção de enzima de 2,5% (v/m).

Diante do exposto, pode-se observar que a enzima Alcalase é amplamente empregada para a extração enzimática de proteínas de matrizes vegetais, incluindo resíduos agroindustriais como os farelos de oleaginosas.

Desta forma, a extração enzimática de proteínas vegetais, para obtenção de hidrolisado proteico, mostra-se uma alternativa ambientalmente correta para valorização e diversificação no aproveitamento dos subprodutos gerados no processamento de óleo de macaúba.

A literatura não reporta informações sobre o emprego desta tecnologia para a extração de proteínas de farelos de amêndoa de macaúba. Logo, o presente trabalho vem contribuir para o entendimento do processo de extração de proteínas via enzimática, permitindo propor diferentes formas de uso e aproveitamento do potencial proteico dos farelos de amêndoa de macaúba.

Portanto, o presente capítulo apresenta o estudo da otimização dos parâmetros de processo para a maximização da extração enzimática de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba, empregando a enzima comercial Alcalase. Comparativamente, o processo também foi conduzido para o farelo de amendoim,

oleaginosa consolidada como fonte de proteínas vegetais. Um paralelo com relação aos resultados obtidos no processo de extração química também foi realizado.

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Neste capítulo, o objetivo geral é o estudo da otimização dos parâmetros de processo para a maximização da extração assistida por enzimas de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba, empregando a enzima comercial Alcalase. Comparativamente, proteínas do farelo de amendoim serão extraídas nas mesmas condições.

Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos de diferentes parâmetros como razão sólido:solução, concentração ou quantidade de enzima e pH, na maximização do rendimento de extração de proteínas;
- Determinar os parâmetros ótimos do processo de extração de proteínas assistida por enzimas para a maximização do rendimento do processo;
- Comparar o rendimento do processo na extração química e enzimática;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Para os estudos de extração e hidrólise de proteínas via enzima, os farelos de amendoim e de amêndoa de macaúba foram empregados. A escolha do farelo de amêndoa de macaúba se justifica devido seu apreciável teor em proteínas, conforme demonstrado anteriormente no capítulo 2, que descreve a obtenção e preparo das matérias primas.

A enzima empregada nos processos de extração foi a Alcalase 2.4 L FG, fornecida pela Novozyme do Brasil. Uma enzima do tipo protease que apresenta atividade declarada pelo fabricante de 2,4 (AU/g). Uma unidade de Anson (AU) equivale a um miliequivalente de tirosina liberada na hidrólise da hemoglobina por minuto (SCHMIDT, 2008). A atividade declarada é obtida na faixa de pH entre 7 e 9 e a temperatura de 30 a 65 °C. Os demais reagentes empregados no processo de extração e quantificação de proteínas foram descritos no capítulo.2.

4.2. Métodos

Os ensaios de extração e hidrólise de proteínas seguiram metodologias descritas por CAPOBIANGO (2006) e LOPES JUNIOR *et al.* (2010), e foram adaptadas para este trabalho, conforme descrito no item a seguir.

4.2.1 Processo de extração e hidrólise enzimática de proteínas dos farelos de amêndoa de macaúba e amendoim

O processo proposto para extração e hidrólise de proteínas dos farelos em estudo está esquematizado na Figura 49.

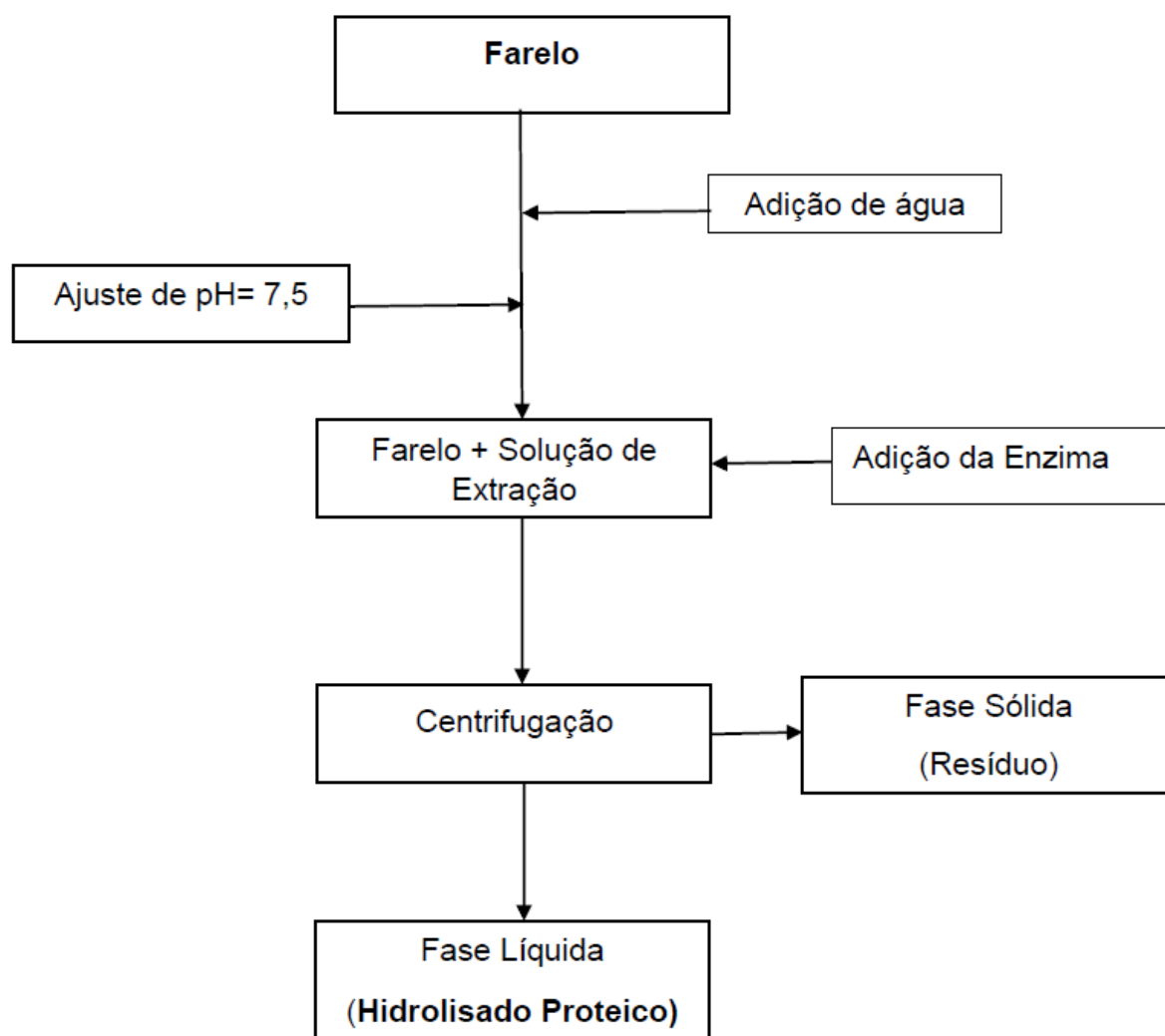


Figura 49-Esquema proposto do processo de extração de proteínas e obtenção de hidrolisado proteico.

No processo descrito na Figura 49, inicialmente o farelo de amendoim ou farelo de amêndoa de macaúba foi suspenso em água deionizada, empregando proporções pré-definidas de sólido:solvente de extração (m:v), em uma célula de extração vedada e encamisada, para controle de temperatura. O sistema foi submetido à agitação empregando-se agitador magnético (200-250 RPM) por 5 min.

Em seguida, o ajuste de pH do sistema foi realizado empregando solução de NaOH a 2 mol/L, até o pH 7,5. O controle de temperatura do sistema foi realizado com auxílio de um banho termostático acoplado as células de extração encamisadas.

A protease foi então adicionada ao sistema, em quantidade pré-definida, e o processo de extração de proteínas dos farelos foi conduzida por 1 hora, sob agitação. O pH do sistema foi monitorado e ajustado ao longo do experimento com auxílio de um pHmetro.

Após 1 hora de processo, o sistema foi levado para um banho previamente preparado com temperatura de 85 a 90 °C, por 15 minutos, com objetivo de inativar a enzima. O sistema com a enzima inativada foi levado para centrifugação a 5000 RPM por 20 minutos, para separação entre as fases sólida e líquida.

Amostras de 10 mL da fase líquida em cada experimento compondo o hidrolisado proteico, foi coletada e analisada para quantificação de proteínas e peptídeos em solução, empregando o método de micro-kjeldahl (AOCS Bc 4-91), referenciado anteriormente no capítulo 2.

Desta forma, considerando a quantidade de proteínas presente nos farelos originais, antes do tratamento, e a quantidade de proteínas na fase líquida final, composta pelo hidrolisado proteico, o rendimento de extração proteica R (%) foi calculado considerando a equação 5.1 (MACHADO *et al.*, 2007; WU *et al.*, 2009).

$$R(\%) = \frac{(vs. ps) - (pe. ve)}{(ma. pa)} * 100 \quad \text{Equação 5.1}$$

Onde ma é a massa da amostra do farelo utilizada na extração (g), pa é o teor de proteína na amostra do farelo (% m/m), vs é o volume de solução extratora (mL), ps é o teor de proteínas na fase líquida ou sobrenadante após extração (% m/v), pe é o teor da proteína no extrato de enzima (%m/v) e ve volume de extrato enzimático utilizado (mL).

É importante mencionar, que o extrato enzimático utilizado também foi caracterizado quanto ao teor de proteínas, para que esta quantidade de proteínas incorporada inicialmente ao sistema fosse descontada da quantidade de proteínas determinada ao final da extração. As análises para determinação do teor de proteínas ao final da extração foram realizadas em triplicata.

Na avaliação dos efeitos de alguns parâmetros de processo sobre o rendimento de extração, a metodologia estatística de planejamento experimental composto central e análise de superfície de resposta foi empregada.

4.2.2. Planejamento experimental empregado nos estudos de extração enzimática de proteínas

O estudo da extração enzimática de proteínas de farelo de amendoim e amêndoa de macaúba considerou a variação de 3 diferentes parâmetros de processo, a saber, razão sólido:solvente de extração quantidade de enzima e temperatura, no planejamento experimental completo 2^3 , que incluiu além dos 2 níveis de estudo para os parâmetros, os pontos centrais e axiais, visando otimizar os parâmetros de processo em relação a maximização do rendimento de extração, através da metodologia de superfície de resposta.

As Tabelas 39 e 40 apresentam os níveis e os parâmetros de processo investigados, assim como os 17 experimentos do planejamento experimental completo 2^3 .

Tabela 39- Parâmetros do planejamento experimental completo 2^3 incluindo pontos centrais e axiais

Fatores		Níveis dos Fatores				
		-1,68	-1	0	1	1,68
Razão sólido:solução (m:v)	X1	1:6,40	1:20,00	1:40,00	1:60,00	1:73,60
Quantidade de enzima (% v:m)	X2	0,32	1,00	2,00	3,00	3,68
Temperatura (°C)	X3	24,80	35,00	50,00	65,00	75,20

Tabela 40- Ensaios do planejamento composto central com pontos centrais e axiais.

Ordem	Fatores reais			Fatores codificados		
	R (m:v)	E (%)	T (°C)	X1	X2	X3
4	1:20,00	1,00	35,00	-1	-1	-1
9	1:20,00	1,00	65,00	-1	-1	1
3	1:20,00	3,00	35,00	-1	1	-1
11	1:20,00	3,00	65,00	-1	1	1
2	1:60,00	1,00	35,00	1	-1	-1
10	1:60,00	1,00	65,00	1	-1	1
1	1:60,00	3,00	35,00	1	1	-1
8	1:60,00	3,00	65,00	1	1	1
16	1:6,40	2,00	50,00	-1,68	0	0
15	1:73,60	2,00	50,00	1,68	0	0
14	1:40,00	0,32	50,00	0	-1,68	0
13	1:40,00	3,68	50,00	0	1,68	0
12	1:40,00	2,00	24,80	0	0	-1,68
17	1:40,00	2,00	75,20	0	0	1,68
5	1:40,00	2,00	50,00	0	0	0
6	1:40,00	2,00	50,00	0	0	0
7	1:40,00	2,00	50,00	0	0	0

A escolha das faixas de estudo para os parâmetros foram definidas de acordo com a literatura e especificações definidas pelo fabricante da enzima, considerando seu desempenho quanto ao rendimento e qualidade dos produtos (SARI, 2015, BOYE & BARBARA 2012).

4.2.3 Tratamento Estatístico

Os parâmetros de processo foram otimizados através da metodologia de superfície de resposta empregando o software STATISTICA 7.0. Na metodologia de superfície de resposta, um modelo que representa o comportamento de uma função resposta (rendimento de extração) em relação aos parâmetros significativos de processo é definido. Desta forma, dentro da faixa estudada para os parâmetros, é possível prever o rendimento de extração do processo segundo modelo de segunda ordem, e para o caso investigado, com até três variáveis, cuja forma codificada se apresenta na equação 5.2:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_{ii}^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad \text{Equação 5.2}$$

Onde Y é a função resposta (rendimento de extração - %), β_0 é o rendimento médio, β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes lineares, quadráticos e de interação entre parâmetros independentes e codificados, respectivamente, X_i e X_j , os parâmetros com efeito significativo segundo teste t- Student e p-valor. O modelo obtido foi validado pela ANOVA. O nível de significância considerado nos estudos foi de $p=0,05$ ou 95% de grau de confiança.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Rendimento de extração de proteínas assistida por enzimas nos farelos de amendoim e amêndoa de macaúba.

Os resultados do planejamento experimental 2³ de rendimento de extração de proteínas empregando enzima, para o farelo de amendoim e amêndoa de macaúba, são apresentados na Tabela 41.

Tabela 41-Rendimento da extração de proteínas assistida por enzimas para os farelos de amendoim e amêndoa de macaúba

Ordem	Parâmetros codificados			Rendimento de proteínas (%)	
	X1	X2	X3	Farelo de amendoim	Farelo de amêndoa
4	-1	-1	-1	58,33±1,55	65,65±0,75
9	-1	-1	1	64,23±0,74	80,89±0,71
3	-1	1	-1	67,19±0,40	71,87±1,37
11	-1	1	1	82,76±1,44	79,04±1,76
2	1	-1	-1	75,45±1,86	78,64±1,07
10	1	-1	1	80,65±1,05	83,80±1,13
1	1	1	-1	83,38±1,16	84,30±0,59
8	1	1	1	94,37±1,48	80,28±1,22
16	-1,682	0	0	61,26±1,01	83,85±1,81
15	1,682	0	0	87,81±0,44	95,74±1,68
14	0	-1,682	0	64,14±0,28	64,82±0,37
13	0	1,682	0	83,53±1,20	70,57±0,85
12	0	0	-1,682	74,59±1,86	78,70±1,30
17	0	0	1,682	89,87±0,90	84,90±1,03
5	0	0	0	91,72±1,08	93,61±0,22
6	0	0	0	91,07±1,93	94,22±1,07
7	0	0	0	91,19±0,45	93,23±0,38

De acordo com os resultados da Tabela 41 observa-se de um modo geral, que o rendimento de extração proteica para ambos os farelos foram semelhantes, demonstrando que as diferentes matérias primas apresentam mesmo comportamento na extração enzimática de proteínas. Contudo, para o farelo de

amendoim, a extração de proteínas foi um pouco menor quando comparada com a extração para o farelo de amêndoa. O máximo rendimento de extração para o farelo de amendoim foi de 94%, enquanto que para o farelo de amêndoa foi de quase 96%, sendo consideradas condições experimentais diferentes.

De um modo geral, a extração enzimática de proteínas se mostrou eficiente, uma vez que, pelo menos 58% das proteínas foram extraídas dos farelos. ZHANG *et al.* (2011) reportam para a extração enzimática simultânea de óleo e proteínas do amendoim, um rendimento de extração de 74% e 72%, respectivamente, quando a enzima Alcalase 2.4L foi empregada nas condições de extração de razão sólido:solução de 1:5, quantidade de enzima de 2%, tempo de extração de 1h, pH da solução de 9,5 e temperatura de 55 °C.

Avaliando os rendimentos obtidos nas diferentes condições experimentais, nota-se na Tabela 41, que os melhores valores de rendimento de extração, para ambos os farelos, foram obtidos quando os parâmetros de processo foram fixados em valores iguais ou acima do ponto central (0), ou seja, o emprego de maiores temperaturas, razão sólido:solução e quantidade de enzima melhoram a extração de proteínas.

No entanto, as mínimas respostas de rendimento, para ambos os farelos, foram observadas quando os parâmetros foram fixados nos menores valores, abaixo do ponto central (0). De um modo geral, os efeitos dos parâmetros no rendimento de extração são coerentes, uma vez que, quanto maior a quantidade de solvente em relação a de sólido, maior é a força motriz da concentração e por isso se promove maior extração da proteína para a fase líquida, da mesma forma, quanto mais enzima no sistema, maior é a hidrólise das proteínas, e por isso, mais facilmente as proteínas são solubilizadas no solvente, quanto a temperatura, em temperaturas em torno de 65 e 70 °C, a enzima Alcalase apresenta ótima atividade catalítica, contribuindo também o aumento da temperatura para a mobilidade das moléculas e solubilização das proteínas em solução (BOYE & BARBARA, 2012; GIONGO, 2006).

5.2 Avaliação estatística dos ensaios do planejamento experimental para a extração enzimática de proteínas

5.2.1 Extração enzimática de proteínas a partir do farelo de Amendoim

Os efeitos dos parâmetros de processo sobre a função resposta, rendimento de extração, foram avaliados estatisticamente ao nível de significância 0,05 ou confiança de 95%, utilizando o Statistica 7.0.

O diagrama de Pareto apresentado na Figura 50 representa a magnitude dos efeitos dos parâmetros e suas interações, demonstrando assim, quais os efeitos que são estatisticamente significativos ($p < 0,05$) para o processo de extração.

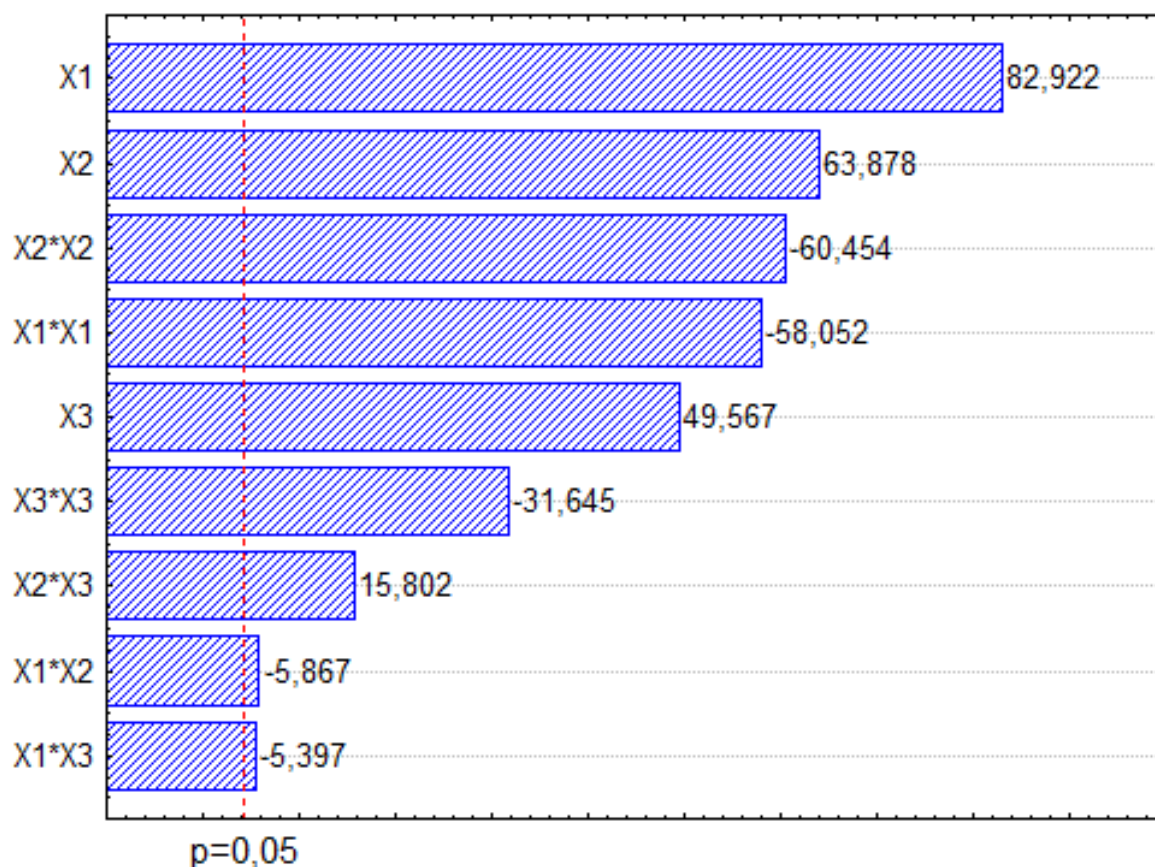


Figura 50 Diagrama de Pareto para efeitos dos parâmetros investigados na extração enzimática de proteínas do farelo de amendoim.

Constatou-se na Figura 50 que todos os parâmetros de processo, assim como suas interações, apresentaram efeito significativo sobre o rendimento de extração.

Contudo, notou-se que o efeito dos termos lineares e quadráticos de X1 e X2 foi mais significativo para o rendimento, que o efeito linear e quadrático para o parâmetro X3. Demonstrando assim, a maior influencia da razão sólido:solução e quantidade de enzima no processo de extração. Os termos de interação entre os parâmetros X1-X2 e X1-X3 são os menos significativos para o processo.

Nota-se na Figura 50, ainda, que os efeitos dos parâmetros X1, X2 e X3 lineares são positivos, no entanto, os efeitos quadráticos para os mesmos parâmetros são negativos, ou seja, os efeitos dos parâmetros investigados sobre o rendimento de extração não são exclusivamente positivos ou negativos, assim, os valores dos parâmetros de processo que maximizam a função resposta se encontram entre o máximo e o mínimo investigados, em um ponto de equilíbrio dos efeitos de todos os parâmetros de processo sobre a resposta, uma vez que, verifica-se na análise estatística do planejamento que todos os efeitos lineares, quadráticos e de interação para os parâmetros foram significativos, não sendo possível avaliar o efeito dos parâmetros principais, sobre o rendimento, isoladamente.

Contudo, o efeito de interação entre os parâmetros X2-X3 foi positivo, o que indica que o efeito do aumento da quantidade de enzima é maior na maximização do rendimento, quando a temperatura é maior, considerando as faixas investigadas.

WANG *et al.* (2008) avaliando o tipo de protease na extração simultânea de óleo e proteínas de amendoim observaram que o rendimento de óleo aumentou de 72% para 92% usando enzimas do tipo Alcalase 2.4L. O melhor efeito da Alcalase em comparação a outras proteases pode ser atribuído à hidrólise de membranas que envolvem conteúdo lipídico, além da membrana citoplasmática, sendo eficaz na produção de pequenos peptídeos. Este efeito permite não só a extração dos compostos proteicos, mas também aumenta a extração de óleos. A extração foi ótima nas condições de temperatura de 60 °C, pH de 8,5, quantidade de enzima de 1,5% e tempo de extração de 8 horas.

WANG *et al.* (2011) na extração enzimática das proteínas das sementes de pinho, usando enzima Alcalse, avaliaram o rendimento do processo, tendo observado que os parâmetros temperatura e razão sólido:solução foram os que mais influenciaram na extração. O rendimento de 88% foi alcançado com os seguintes

parâmetros ótimos: temperatura de 55 °C, tempo de extração de 2,2 h, concentração da enzima de 1,9%, razão sólido:solução de 1:5 e pH de 8,8.

Nota-se que apesar das informações variadas obtidas a partir da literatura os dados apresentados no estudo estatístico da extração de proteínas a partir do farelo de amendoim são coerentes.

Uma vez avaliado o efeito dos parâmetros de processo, os parâmetros do modelo que descreve o comportamento dos dados experimentais para o rendimento, considerando os 3 parâmetros investigados, puderam ser validado pelo teste estatístico da ANOVA. A Tabela 42 apresenta o teste da ANOVA para os coeficientes do modelo quadrático obtido para o processo de extração enzimático de proteínas do farelo de amendoim.

Tabela 42- ANOVA do modelo de segunda ordem e dos seus coeficientes para o rendimento de extração de proteínas do farelo de amendoim

Fator	SQ	GL	MQ	Fcal	p-valor
Regressão/Modelo	2299,821	9	255,5357	355,374	1,80E-08
X1 (L)	822,608	1	822,6081	6876,078	0,000145
X1 (Q)	403,174	1	403,1740	3370,081	0,000297
X2 (L)	488,157	1	488,1572	4080,445	0,000245
X2 (Q)	437,232	1	437,2316	3654,764	0,000274
X3 (L)	293,933	1	293,9331	2456,950	0,000407
X3 (Q)	119,801	1	119,8007	1001,399	0,000997
X1* X2	4,118	1	4,1185	34,426	0,027841
X1* X3	3,485	1	3,4848	29,129	0,032658
X2* X3	29,876	1	29,8765	249,733	0,003980
Resíduos	5,033429	7	0,71906		
Falta de Ajuste	2,709	5	0,5419	4,529	0,190685
Erro Puro	0,239	2	0,1196		
Total SQ	2296,985	16			

F_{tab} (9,7) = 3,68

Na Tabela 42, SQ corresponde à soma quadrática, GL aos graus de liberdade, MQ à soma da média quadrática, Fcal é o parâmetro de Fischer e p-valor o valor da probabilidade de significância.

Pelo teste da ANOVA, o modelo que descreve o rendimento de extração de proteínas em função dos parâmetros de processo só é válido se o valor de F calculado (Fcal) for maior que o valor de F tabelado (F_{Tab}). O valor de F_{tab} para o

teste F foi obtido a partir da Tabela de distribuição F apresentada no Anexo B1 para o nível de significância de 0,05 e considerando os graus de liberdade para regressão e o resíduo.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 42, o modelo se mostra válido, pois F_{cal} do modelo (355,374) foi muito maior que F_{tab} (3,68). Além disso, o coeficiente de regressão do modelo (R^2), foi de 0,9971, o que demonstrou que o modelo foi capaz de representar 99,71% dos dados experimentais.

Quanto ao teste de falta de ajuste, que verifica se a falta de ajuste do modelo esta relacionada aos erros aleatórios experimentais ou ao modelo mal definido, o p-valor da falta de ajuste do modelo mostra-se maior que 0,05, o que indica que não há falta de ajuste no modelo obtido, portanto, o modelo descreve bem os dados experimentais, sendo útil inclusive para prever valores de rendimento, para qualquer valor dos parâmetros, dentro das faixas investigadas.

O modelo codificado obtido do planejamento experimental e validado pela ANOVA é apresentado na equação 5.3.

$$R1 = 91,33 + 7,76X_1 + 5,98X_2 + 4,64X_3 - 5,98X_1^2 - 6,23X_2^2 - 3,26X_3^2 - 0,72X_1X_2 - 0,66X_1X_3 + 1,93X_2X_3$$

Equação 5.3

Onde R1 (%) é o rendimento de extração de proteínas; X1, X2 e X3 correspondem aos parâmetros de processo codificados.

A partir dos valores experimentais de rendimento de extração e os valores preditos pelo modelo obtido do planejamento experimental e apresentado na equação 5.3, foi possível obter o gráfico representado na Figura 51 que demonstra a acuracidade do modelo em prever e representar o comportamento dos dados experimentais, confirmando desta forma que não há falta de ajuste para o modelo.

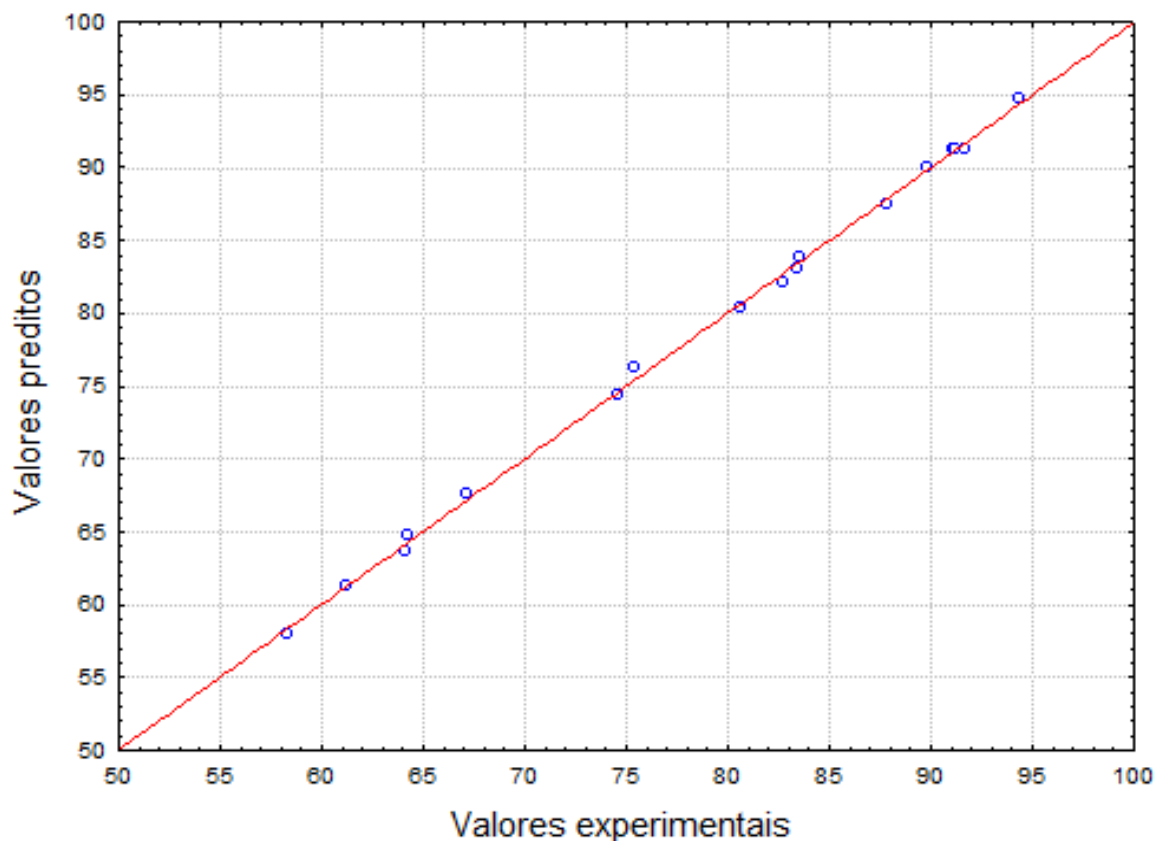


Figura 51- Relação entre os valores de rendimento preditos pelo modelo e os valores experimentais

Observado a Figura 51, pode-se dizer que o modelo da segunda ordem obtido para o rendimento de extração de proteínas de farelo de amendoim representa bem os dados experimentais.

A partir das derivadas parciais do modelo apresentado na equação 5.3., com relação cada parâmetro do processo, ($\frac{\partial Y}{\partial x_n} = 0$), onde Y equivalente a R - rendimento de extração, é possível obter as condições ótimas de processo onde os parâmetros (X_n) maximizam o rendimento de extração de proteínas.

Assim, resolvendo o sistema de equações para X_1 , X_2 e X_3 , representado pelas derivadas parciais expressas pelas equações 5.4, 5.5 e 5.6, obtém-se os seguintes valores ótimos para os parâmetros de processo codificados: $X_1 = 0,57$; $X_2 = 0,57$ e $X_3 = 0,82$, correspondentes em valores reais a $X_1 = 1:57$ (v/m), $X_2 = 2,57\%$

e $X_3 = 62,36$ °C, onde o rendimento máximo de extração de proteínas foi de 97,17%, segundo o modelo.

$$\frac{\partial Y_1}{\partial X_1} = 7,76 - 11,96X_1 - 0,72X_2 - 0,66X_3 = 0 \quad \text{Equação 5.4}$$

$$\frac{\partial Y_1}{\partial X_2} = 5,98 - 0,72X_1 - 12,46X_2 + 1,93X_3 = 0 \quad \text{Equação 5.5}$$

$$\frac{\partial Y_1}{\partial X_3} = 4,64 - 0,66X_1 + 1,93X_2 - 6,52X_3 = 0 \quad \text{Equação 5.6}$$

Conforme havia sido observado anteriormente na Tabela 42, os valores experimentais de rendimento, associados aos valores de parâmetro de processo X_1 , X_2 e X_3 positivos e acima do ponto central (0) maximizam o rendimento de extração, fato confirmado pelos valores ótimos dos parâmetros de processo obtidos a partir do modelo e reportados.

A partir da equação do modelo de rendimento de extração (equação 3), foi possível obter a superfície de resposta que descreve o comportamento do rendimento (R_1) em função dos parâmetros X_1 , X_2 e X_3 .

Na Figura 52 é apresentada a superfície de resposta do rendimento (R) em relação aos parâmetros X_1 – razão sólido:solução e X_2 – quantidade de enzima, onde é possível verificar a região ótima para os parâmetros, quando o rendimento é máximo.

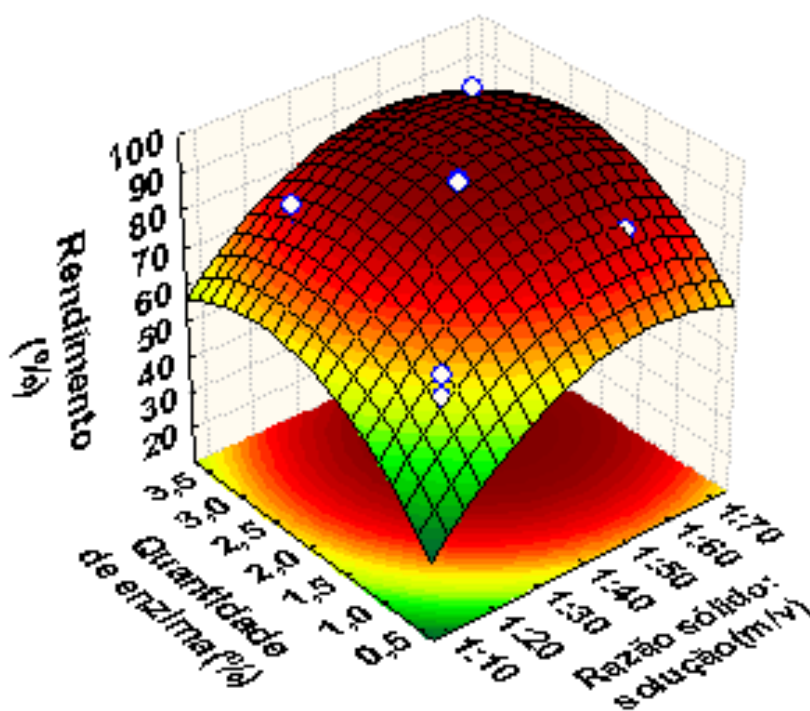


Figura 52 Superfície de resposta do rendimento (R1) em função dos parâmetros razão sólido: solução (X1) e quantidade de enzima (X2).

Na Figura 52 é possível verificar que o rendimento é máximo em proporções sólido:solução e quantidade de enzima tendendo aos maiores valores investigados. O ponto onde o rendimento máximo foi de 97,17 e os parâmetros ótimos de X1 e X2 encontrados foram de 1:57 (m:v) e 2,57%(v/m) respectivamente.

Contudo, na Figura 52, é possível observar que entre as faixas de operação de 1:30 a 1:59 para X1 e 1,5% a 3% para X2, o rendimento de extração do processo é no mínimo de 80%, demonstrando a flexibilidade de operação do processo de extração enzimática de proteínas, onde bons rendimentos ainda são atingidos.

Da mesma forma, na Figura 53 é apresentada a superfície de resposta para o rendimento (R) em relação aos parâmetros X1 – razão sólido:solução e X3 – temperatura de extração, onde pode ser observada a região ótima dos parâmetros, quando o rendimento é máximo de 97,17%.

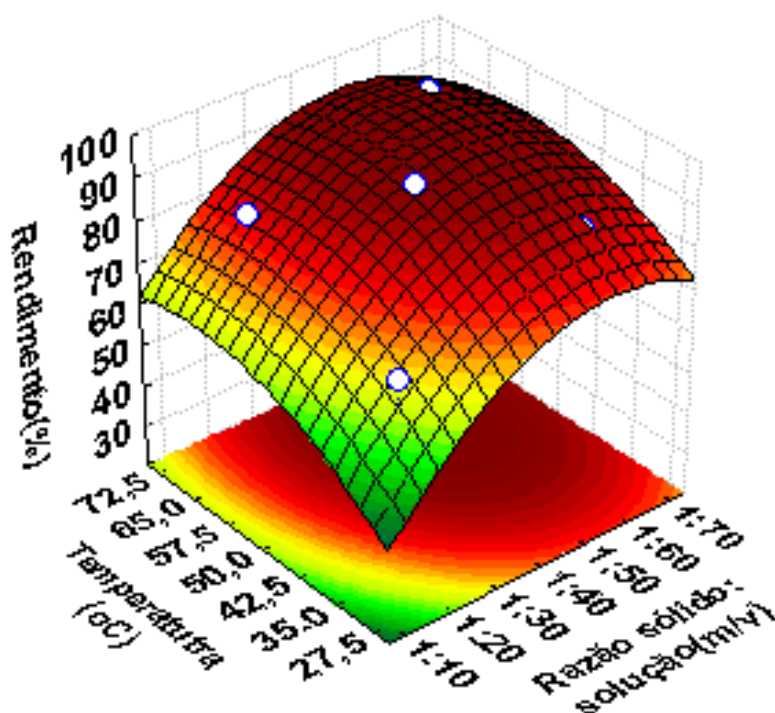


Figura 53-Superfície de resposta para o rendimento (R1) em função dos parâmetros razão sólido: solução (X1) e temperatura (X3).

Na Figura 53 é possível verificar que os valores dos parâmetros que maximizam o rendimento também estão em regiões acima do ponto central. O ponto onde os parâmetros de processo são ótimos e maximizam o rendimento são; $X1 = 1:54$ (m/v) e $X3 = 62,36^{\circ}\text{C}$. É importante mencionar, que segundo o fabricante, a temperatura ótima para máxima atividade da Alcalase é de 65°C , valor que corrobora o ótimo obtido para este parâmetro, no processo de extração enzimática de proteínas.

Contudo, na Figura 53, é possível observar que entre as faixas de operação de 1:40 a 1:60 para X1 e 50°C a 65°C para X3, o rendimento de extração do processo é de no mínimo 90%, demonstrando a flexibilidade de operação do processo, onde bons rendimentos ainda são atingidos.

Por fim, a Figura 54 apresenta a superfície de resposta para o rendimento (R) em relação aos parâmetros X2 – quantidade de enzima e X3 - Temperatura, onde pode ser identificada a região ótima de operação para os parâmetros, onde o rendimento de extração é máximo e de 97,17%.

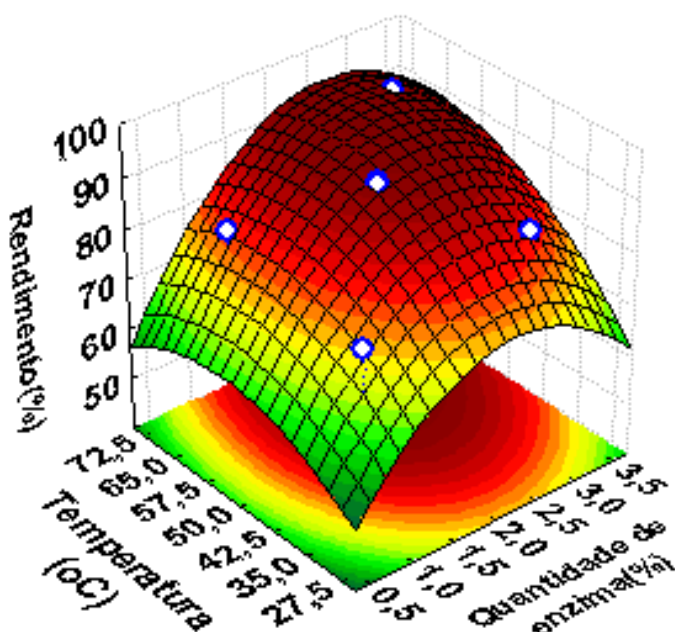


Figura 54 Superfície de resposta para o rendimento (R1) em função dos parâmetros temperatura (X3) e quantidade de enzima (X2).

Na Figura 54 observa-se que o ponto onde os valores dos parâmetros são ótimos e maximizam o rendimento são; $X_3 = 62,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ e $X_2 = 2,57\%$.

Contudo, na Figura 54 é possível observar que entre as faixas de operação de 1,5% a 3,0% para X_2 e 42,5 a 65 para X_3 , o rendimento de extração do processo foi no mínimo de 90%, demonstrando a flexibilidade de operação do processo, onde bons rendimentos ainda são atingidos.

Desta forma, segundo o que foi apresentado, o processo de extração enzimática de proteínas a partir dos farelos de amendoim pôde ter seus parâmetros de operação otimizados, a saber, razão sólido:solução, quantidade de enzima e temperatura de extração, quando a enzima Alcalase é empregada em sistema aquoso com pH de 7,5. O rendimento máximo de extração obtido nas condições ótimas de operação dos parâmetros de processo é de 97%. Nota-se que a quantidade ótima de enzima para que o processo atinja o rendimento máximo não corresponde ao maior valor investigado, o que reflete a eficiente atividade da enzima, resultando em eficiência e economia para o processo (JIANG *et al.*, 2010, WANG *et al.*, 2008; ZHAO *et al.*, 2013).

5.2.2 Extração enzimática de proteínas a partir do farelo de amêndoa de macaúba

O estudo de otimização dos parâmetros de processo para extração enzimática de proteínas da amêndoa de macaúba foi conduzido da mesma forma como apresentado para a extração de proteínas do amendoim. Assim, os efeitos dos parâmetros de processo sobre a função resposta, rendimento de extração, foram avaliados ao nível de significância de 0,05 ou grau de confiança de 95%, a fim de avaliar se a variação de cada parâmetro é estatisticamente significativa para a maximização do rendimento de extração, dentro da faixa investigada.

O diagrama de Pareto apresentado na Figura 55 representa a magnitude dos efeitos dos parâmetros e suas interações, demonstrando assim, quais são os efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,05$) para o processo de extração.

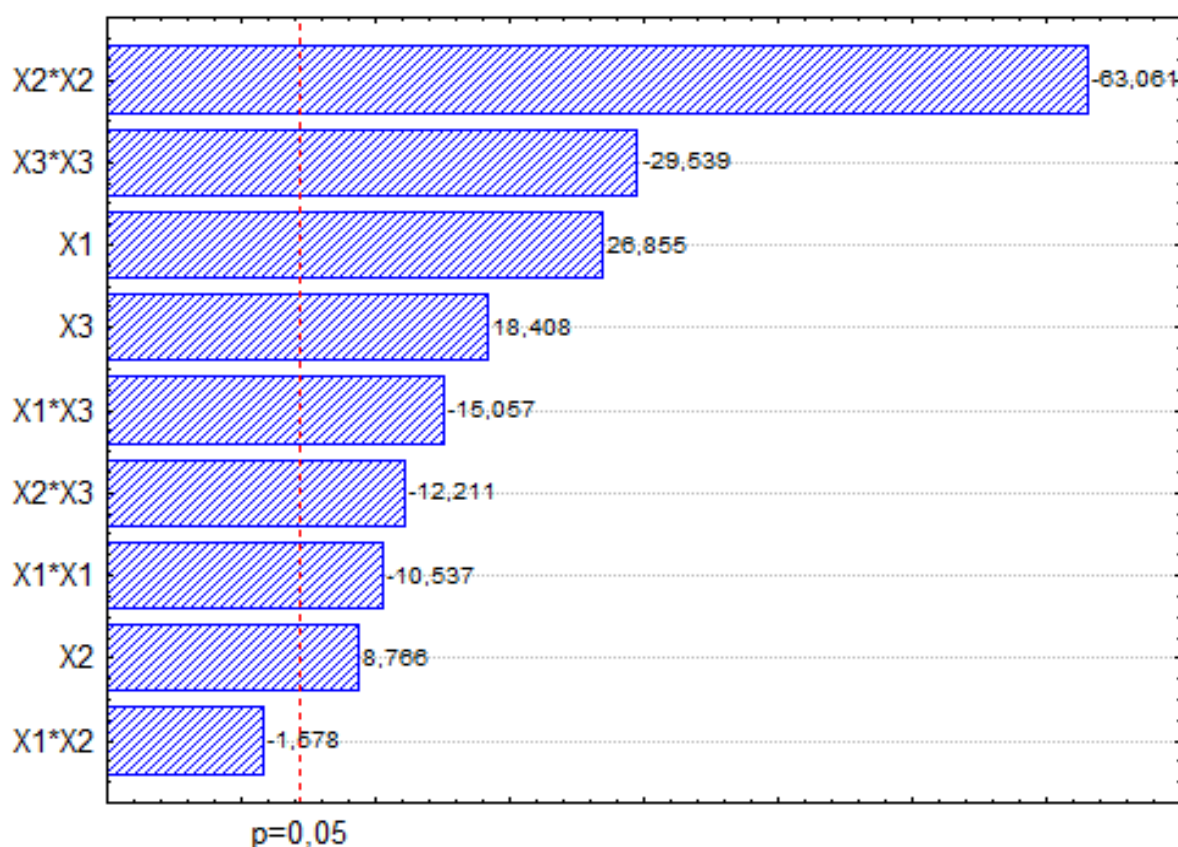


Figura 55- Diagrama de Pareto para efeitos dos parâmetros investigados na extração enzimática das proteínas do farelo de amêndoa de macaúba

Observando a Figura 55, notou-se que todos os efeitos lineares e quadráticos foram significativos para a extração de proteínas dos farelos de amêndoa, no entanto, a interação entre os parâmetros X1 - X2 (razão sólido:solução e quantidade de enzima), não foi significativa ao nível de 0,05, efeito que também demonstrou pouca influência na extração de proteínas do farelo de amendoim.

De forma muito diferente do comportamento observado para os efeitos dos parâmetros de processo na extração de proteínas de farelo do amendoim, notou-se que na Figura 55 para a extração enzimática de proteínas de farelo de amêndoa de macaúba, os efeitos dos parâmetros quadráticos foram maiores que os efeitos dos parâmetros lineares, com destaque para os efeitos quadrático de X2 e X3, seguido pelos efeitos lineares de X1 e X3, nesta ordem, do mais significativo para o menos significativo. Assim, a quantidade de enzima e principalmente a temperatura parecem exercer grande influência sobre o rendimento do processo.

Os efeitos quadráticos do parâmetro X1 e linear do parâmetro X2 são os que menos influenciam na função resposta, rendimento de extração. O efeito das interações entre os parâmetros X1 - X3 e X2 - X3 foi significativo e maiores que os efeitos de X1 quadrático e X2 linear. Como tanto os efeitos principal, quadrático e de interação foram significativos, não se deve analisar isoladamente os efeitos dos parâmetros sobre a função resposta.

Observa-se na Figura 55 que assim como verificado para o caso da extração de proteínas do amendoim, que todos os efeitos dos parâmetros lineares foram positivos e os efeitos quadráticos dos parâmetros foram negativos, ou seja, os parâmetros podem tanto influenciar positivamente quanto negativamente, o rendimento de extração, quando valores máximos ou mínimos dos parâmetros são fixados, ocorrendo provavelmente a maximização do rendimento, em condições intermediária às investigadas para os parâmetros.

Quanto aos efeitos das interações de X1 - X3 e X2 - X3, nota-se que ambos são negativos, desta forma, pode-se dizer que, tanto o aumento da razão solução: sólido, quanto da quantidade de enzima possui efeito maior sobre a maximização do rendimento, quando a temperatura de extração é menor, considerando as faixas investigadas. Isso justamente ocorre, pois, em temperaturas de extração menores a

atividade da enzima é menor, logo os demais parâmetros maximizados compensam o efeito da temperatura no aumento do rendimento.

Na literatura não foram encontrados trabalhos que abordam o processo enzimático de extração de proteínas de farelos de amêndoa de macaúba, como forma de comparação aos dados obtidos. No presente trabalho a comparação foi feita com extração das proteínas do farelo de amendoim.

Assim, uma vez avaliados os efeitos dos parâmetros de processo, os parâmetros do modelo que descrevem o comportamento dos dados experimentais de rendimento, considerando os 3 parâmetros investigados, puderam ser validados pelo teste estatístico da ANOVA. É importante salientar que o termo de interação X1-X2, não significativo, foi eliminado como termo que compõe o modelo que descreve o rendimento de extração, para validação do mesmo pelo teste da ANOVA.

A Tabela 43 apresenta o teste da ANOVA para os coeficientes do modelo quadrático obtido para o processo de extração enzimática de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba.

Tabela 43- ANOVA do modelo de segunda ordem e dos coeficientes para o rendimento da extração assistida por enzimas nos farelos de amêndoa de macaúba

Fatores	SQ	GL	MQ	Fcal	p-valor
Modelo/ Regressão	1429,844	9	158,8716	119,0776	8,06E-07
(X1 (L)	177,655	1	177,6547	724,431	0,001378
X1 (Q)	27,872	1	27,8717	113,654	0,008684
X2 (L)	19,302	1	19,3017	78,707	0,012468
X2 (Q)	990,889	1	990,8888	4040,596	0,000247
X3 (L)	84,949	1	84,9489	346,400	0,002874
X3 (Q)	213,969	1	213,9690	872,512	0,001144
X1*X3	56,605	1	56,6048	230,820	0,004304
X2*X3	36,980	1	36,9800	150,795	0,006566
Resíduos	9,339	7	1,3342		
Falta de Ajuste	8,827	5	1,7653	7,198	0,126456
Erro Puro	0,490	2	0,2452		
Total SQ	1439,184	16			

F_{tab} (9,7) = 3,68.

Na Tabela 43, SQ corresponde à soma quadrática, GL aos graus de liberdade, MQ à soma da média quadrática, Fcal é o parâmetro de Fischer e p-valor o valor da probabilidade de significância.

Da mesma forma como feito para os dados de ANOVA para a extração de proteínas do farelo de amendoim, os valores apresentados na Tabela 43 foram avaliados quanto a grandeza F_{cal} (119,07) em comparação com o F_{tab} (3,68), sendo considerado o modelo obtido do planejamento experimental válido, pois F_{cal} foi maior que F_{tab} , para o nível de significância de 5%. Além disso, o parâmetro coeficiente de regressão foi de 0,9852, indicando que o modelo conseguiu explicar cerca de 98% dos dados experimentais.

O teste da falta de ajuste indicou que o valor de p para o modelo foi maior que 0,05 confirmando que não se verificou a falta de ajuste para o modelo, ou seja, os desvios observados entre dados experimentais e preditos pelo modelo foram devido a erros experimentais aleatórios e não relacionado a um modelo mal definido. Portanto, o modelo descreve de forma adequada os dados experimentais.

Assim, o modelo codificado obtido do planejamento experimental e validado pela ANOVA é apresentado na equação Da mesma forma como feito para o teste da ANOVA na extração de proteínas do farelo de amendoim, o valor de F_{cal} (119,07) apresentado na Tabela 44 foi comparado ao valor de F_{tab} (3,68), obtido da Tabela de distribuição F, apresentada no anexo B1 Assim, o modelo obtido do planejamento experimental para a extração de proteínas do farelo de amêndoa foi considerado válido, pois F_{cal} é maior que F_{tab} , para o nível de significância de 0,05. Além disso, o parâmetro coeficiente de regressão (R^2) foi de 0,9852, indicando que o modelo consegue explicar cerca de 98% dos dados experimentais.

O teste da falta de ajuste indica que o p-valor para falta de ajuste é maior que 0,05, confirmando que não se verifica a falta de ajuste para o modelo, ou seja, os desvios observados entre dados experimentais e preditos pelo modelo são devido a erros experimentais aleatórios e não relacionados a um modelo mal definido. Portanto, o modelo descreve de forma adequada os dados experimentais.

Assim, o modelo codificado obtido do planejamento experimental e validado pela ANOVA é apresentado na equação 5.7.

$$R_2 = 93,74 + 3,63X_1 + 1,18X_2 + 2,49X_3 - 1,56X_1^2$$

Equação 5.7

$$-9,38X_2^2 - 4,39X_3^2 - 2,66X_1X_3 - 2,15X_2X_3$$

Onde R_2 (%) é o rendimento de extração de proteínas; X_1 , X_2 e X_3 correspondem aos parâmetros de processo codificados. Como se pode notar, a interação X_1 - X_2 não aparece no modelo, uma vez que o efeito desta foi estatisticamente não significativo ao nível de significância de 0,05.

A partir dos valores experimentais de rendimento de extração e os valores preditos pelo modelo obtido do planejamento experimental e apresentado na equação 5.7, foi possível obter o gráfico representado na Figura 60, que demonstra a acuracidade do modelo em predizer e representar o comportamento dos dados experimentais.

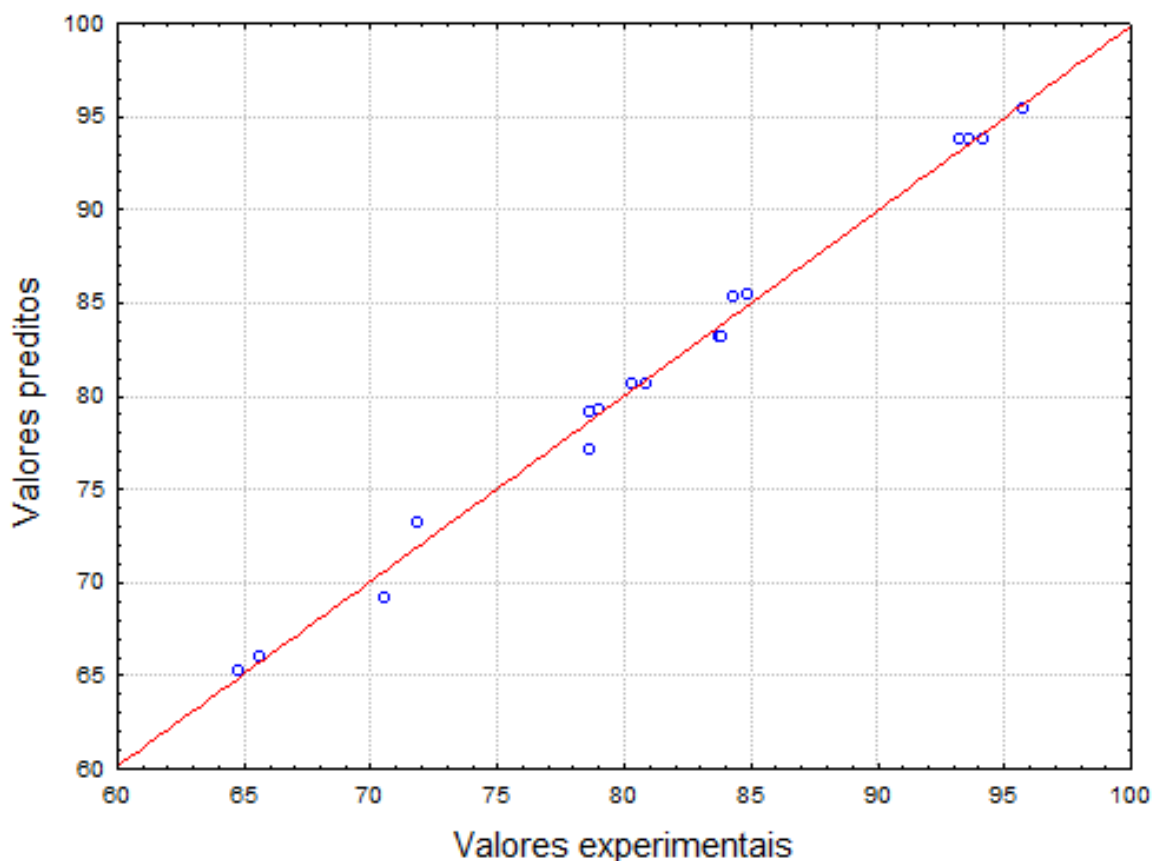


Figura 56 - Relação entre os valores de rendimento preditos pelo modelo os valores experimentais.

Observando a Figura 56 pode-se dizer que o modelo de segunda ordem obtido para o rendimento de extração de proteínas de farelo de amêndoa representa bem os dados experimentais, confirmando assim que não há falta de ajuste associada ao modelo obtido. Contudo, pode-se afirmar que o modelo obtido para a extração de proteínas do amendoim foi um pouco melhor que o obtido para a extração de proteínas da amêndoa.

A partir das derivadas parciais do modelo (Equação 5.7) com relação a cada parâmetro do processo (X_n), é possível obter os valores dos parâmetros nas condições ótimas de processo, onde o máximo rendimento de extração de proteínas pode ser obtido por $(\frac{\partial Y}{\partial X_n} = 0)$, sendo Y equivalente a R, rendimento do processo.

Assim, resolvendo o sistema de equações para X1, X2 e X3, representados pelas equações 5.8, 5.9 e 5.10, obtêm-se os seguintes valores ótimos codificados para os parâmetros de processo; X1 = 1,24, X2 = 0,06 e X3 = - 0,11, que transformados para os valores reais empregados para os parâmetros correspondem a, X1 = 1:64,8 (m:v), X2 = 2,06 % e X3 = 47,52 °C, onde o rendimento máximo de extração de proteínas foi de 95,89%, segundo o modelo.

$$\frac{\partial Y_2}{\partial X_1} = 3,63 - 3,12X_1 - 0,28X_2 - 2,66X_3 = 0 \quad \text{Equação 5.8}$$

$$\frac{\partial Y_2}{\partial X_2} = 1,18 - 0,28X_1 - 18,76X_2 - 2,16X_3 = 0 \quad \text{Equação 5.9}$$

$$\frac{\partial Y_2}{\partial X_3} = 2,49 - 2,66X_1 - 2,16X_2 - 8,78X_3 = 0 \quad \text{Equação 5.10}$$

Conforme havia sido observado anteriormente nos dados experimentais de rendimento apresentados na Tabela 41, e diferente do comportamento observado para a extração de proteína do farelo de amendoim, valores para os parâmetros de processo X1 positivos e acima de +1 e para X2 e X3 em torno do ponto central (0), maximizam o rendimento de extração, fato confirmado pelos valores ótimos dos parâmetros de processo obtidos e reportados acima. Logo, para a extração de proteínas do farelo de amêndoa de macaúba, o parâmetro X1 poderia ser investigado em valores maiores, a fim de avaliar o efeito sobre o aumento no rendimento de extração.

É importante notar, que a partir dos modelos obtidos para a extração de proteínas dos farelos de amendoim e amêndoa, o rendimento de extração máximo para o farelo de amendoim foi maior que para o de amêndoa, resultado oposto ao verificado nos dados experimentais apresentados na Tabela 41, isso é justificado principalmente pelo fato do modelo que representa os dados de extração de proteínas para o farelo de amêndoa apresentar um coeficiente de correlação menor que ao obtido para o modelo que representa o rendimento de extração para o farelo de amendoim. Somado a isso, ainda existe a possibilidade do efeito do parâmetro

X1, para a extração de proteínas do farelo de amêndoa, pesar positivamente para o aumento do rendimento, quando empregados valores maiores aos investigados, esta influência pode ser mais bem visualizada nas análises das curvas de superfície de resposta, quando o rendimento é representado em função deste parâmetro.

A partir da equação do modelo de rendimento de extração (equação 5.7) foi possível obter a superfície de resposta que descreve o comportamento do rendimento (R) em função dos parâmetros X1, X2 e X3, conforme se mostra nas Figuras 57, 58 e 59.

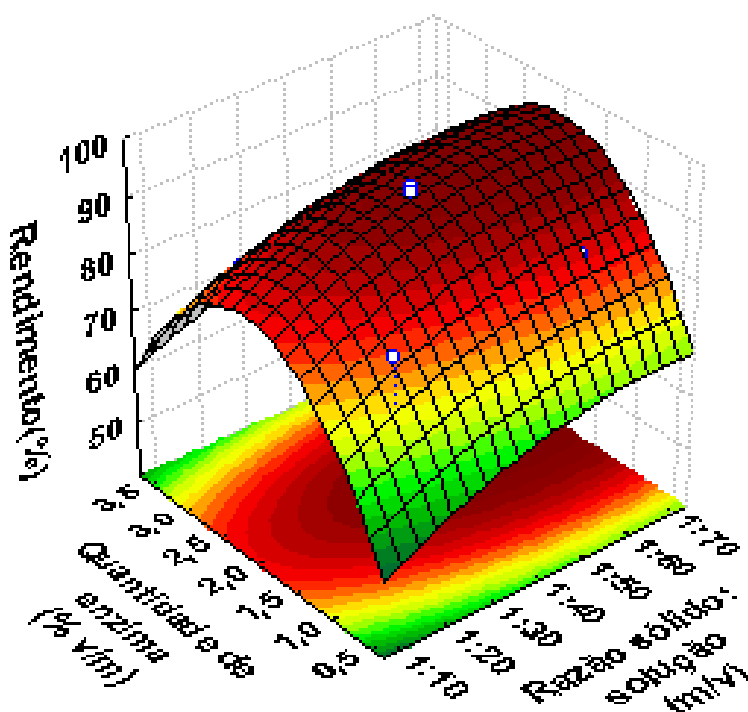


Figura 57- Superfície de resposta para o rendimento (R2) em função dos parâmetros razão de sólido:solução (X1) e quantidade de enzima (X2).

Na Figura 57 é possível verificar que o rendimento foi máximo quando a quantidade de enzima foi empregada em valores próximos ao ponto central, em torno de 2,0%, no entanto, para o parâmetro razão de sólido:solução verificou-se que a maximização do rendimento foi possível praticamente em toda a faixa investigada de valores, com tendência de maximização do rendimento em valores próximos aos investigados, acima de 1:40 (m:v), indicando que para este parâmetro,

estudos em intervalos de valores maiores podem ser conduzidos, a fim de verificar se o rendimento pode ser melhorado. Este comportamento demonstra que a enzima não precisa ser empregada em grandes quantidades para que seu efeito seja observado, o que é esperado para um catalisador.

Portanto, na Figura 57 foi possível observar que entre as faixas de operação de 1:20 a 1:70 para X1 e 1,5% a 2,5% para X2, o rendimento de extração do processo é no mínimo de 90%, demonstrando a flexibilidade de operação do processo, onde bons rendimentos ainda são atingidos.

O ponto onde o rendimento é máximo de 95,89%, o parâmetro X1 possui valores acima de 1:50 (m:v) e o parâmetro X2 possui valor de 2,06%, respectivamente.

Da mesma forma, na Figura 58 é apresentada a superfície de resposta para o rendimento em relação aos parâmetros X1 - razão sólido:solução e X3 - Temperatura de extração, onde pode ser observada a região de valores ótima para os parâmetros de processo onde o rendimento é máximo de 95%.

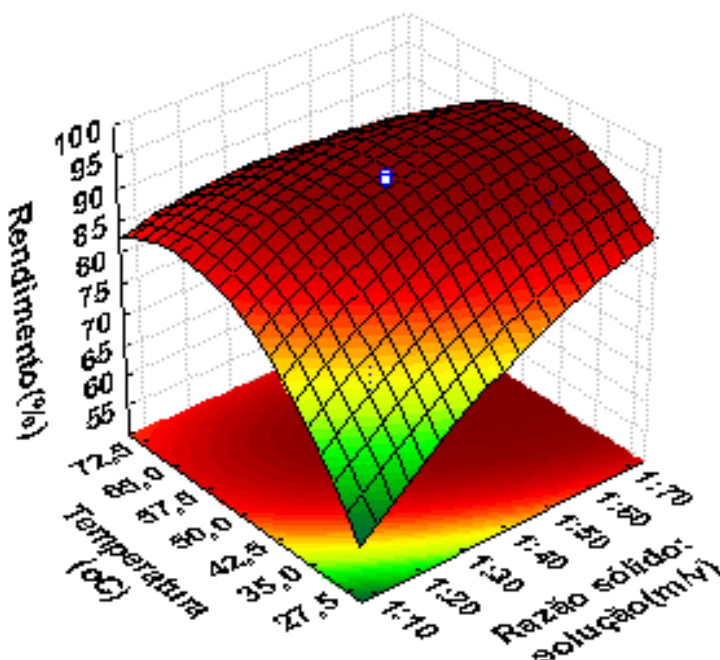


Figura 58- Superfície de resposta para o rendimento de extração (R2) em função dos parâmetros razão sólido:solução (X1) e temperatura (X3).

Da mesma forma ao observado para a Figura 57 anterior, na Figura 58 foi possível verificar que os valores do parâmetro X1 que maximizam o rendimento, compreendem uma ampla faixa dentro dos valores investigados, com tendência de aumento do rendimento quando maiores valores de X1 são utilizados. Quanto ao parâmetro X3, a maximização do rendimento ocorreu para valores em torno do ponto central. Contudo, notou-se que também para este parâmetro, quando X1 é máximo, uma ampla faixa de valores para X3 maximiza o rendimento de extração, demonstrando a forte interação e influencia combinada dos parâmetros sobre o rendimento.

Os valores onde os parâmetros de processo são ótimos e maximizam o rendimento de extração são para X1, acima de 1:40 e para X3 igual a 48,35°C.

Contudo, na Figura 58 é possível observar que entre as faixas de operação de 1:20 a 1:70 para X1 e 42,5 °C a 57,5 °C para X3, o rendimento de extração é no mínimo de 90%, demonstrando a flexibilidade de operação do processo, onde bons rendimentos ainda são atingidos.

Na Figura 59 é apresentada a superfície de resposta para o rendimento de extração em relação aos parâmetros X2 – quantidade de enzima e X3 - temperatura, onde pode ser identificada a região de valores ótima para os parâmetros de processo, quando o rendimento de extração é máximo de 95%.

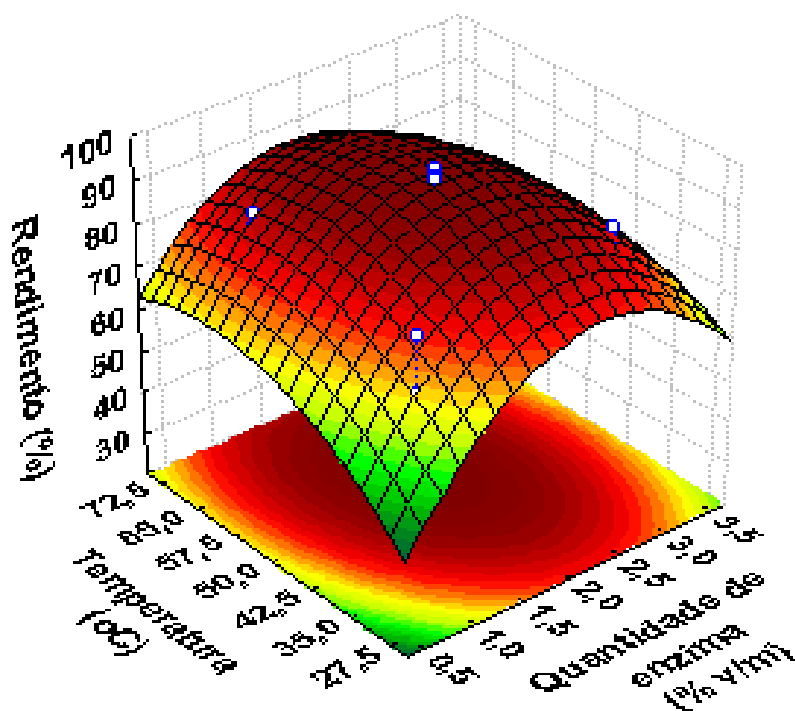


Figura 59- Superfície de resposta para o rendimento de extração (R2) em relação aos parâmetros (X3) temperatura e (X2) quantidade de enzima.

Na Figura 59 observa-se que o ponto onde os valores dos parâmetros são ótimos e maximizam o rendimento são $X3 = 47,35\text{ °C}$ e $X2 = 2,06\%$.

Contudo, na Figura 59 é possível observar que entre as faixas de operação de 1,5% a 2,5% para X2 e 42,5 °C a 57,5 °C para X3, o rendimento de extração do processo é no mínimo de 90%, demonstrando a flexibilidade de operação do processo, onde bons rendimentos ainda são atingidos.

Desta forma, segundo o que foi apresentado, o processo de extração enzimática de proteínas dos farelos de amêndoa de macaúba pôde ser otimizado quanto aos seus parâmetros de operação, a saber, razão sólido:solução, quantidade de enzima e temperatura de extração, quando a enzima Alcalase é utilizada em sistema aquoso com pH de 7,5, sendo obtido rendimento máximo de extração de 95%.

Nota-se que a quantidade de enzima que maximiza o rendimento de extração não corresponde ao máximo valor investigado, o que associa eficiência e economia

para o processo. Além disso, nota-se que a temperatura ideal de processo encontra-se dentro da faixa de temperatura especificada pelo fabricante, onde a enzima possui atividade ótima. Adicionalmente, nota-se uma ampla faixa flexível de trabalho para a razão sólido:solução onde o rendimento de extração é maximizado, quando os demais parâmetros são fixados no ótimo determinado.

Conforme mencionado anteriormente, não foram reportados na literatura estudos semelhantes para o farelo de amêndoa de macaúba, no entanto, em comparação aos valores observados para o farelo de amendoim, e reportados na literatura para outras matérias primas vegetais, pode-se dizer que os valores obtidos de rendimento e parâmetro de processo otimizados foram coerentes.

ZHANG *et al.* (2010) reportaram para a extração simultânea de óleo e proteínas de farinha de amendoim, empregando Alcalase, valores otimizados para os parâmetros de processo, a saber, quantidade de enzima 2% e temperatura de extração de 60 °C.

YUST *et al.* (2003) para a extração de proteínas da farinha de girassol, reportam o valor do parâmetro otimizado em 0,1% para a concentração de enzima Alcalase obtendo-se um rendimento de extração de 87,4%, dentro da faixa da temperatura da atividade enzimática de 65°C.

5.2.3 Ensaios para confirmação do rendimento maximizado nas condições ótimas determinadas para os parâmetros de processo

A fim de validar os resultados obtidos nos estudos do planejamento experimental com análise por superfície de resposta, para otimização dos parâmetros de processo na extração enzimática de proteínas a partir de farelos, foram realizados 2 ensaios de extração com cada tipo de farelo investigado, empregando-se nos ensaios, as condições otimizadas para os parâmetros do processo de extração. Os rendimentos de extração de proteínas obtidos experimentalmente foram comparados aos valores dos rendimentos estimados pelos modelos obtidos nos estudos do planejamento experimental.

A Tabela 44 apresenta os valores dos parâmetros de processo ótimos e utilizados nos ensaios de extração, assim como os resultados de rendimento de

extração experimental e predito pelos modelos (equação 6 e equação 7), para ambos os farelos, amendoim e amêndoa.

Tabela 44- Rendimento de extração enzimática de proteínas, experimental e predito.

Farelo	Parâmetros otimizados codificados			Rendimento (%)	
	Razão sólido:solução (m:v)	Quantidade de enzima (%)	Temperatura (°C)	Modelo	Experimental
Amendoim	1:54	2,57	62,50	97,17	95,62±1,24
Amêndoa	1:64	2,06	48,35	95,89	93,79±1,14

Na Tabela 44 nota-se que os valores experimentais para o rendimento de extração de proteínas foram próximos aos valores de rendimento predito pelos modelos, sendo obtido desvio relativo máximo, entre os valores experimentais e preditos, de 1,2%.

Desta forma, pode-se dizer que os modelos obtidos podem prever satisfatoriamente o rendimento de extração enzimática de proteínas, dentro da faixa investigada para os parâmetros de processo. Além disso, pode-se afirmar que os parâmetros de processo foram adequadamente otimizados para valores que maximizam o rendimento de extração de proteínas.

Nota-se na Tabela 44 que os valores dos parâmetros de processo otimizados não diferiram muito entre os dois tipos de farelos investigados. A quantidade de enzima ideal para a extração de proteínas ficou em torno de 2,3%, valor intermediário investigado, demonstrando que a enzima, sendo um catalisador biológico, não demanda ser empregada em grandes quantidades no processo, para que sua ação seja exercida. Segundo SARI (2015), o uso da Alcalase é recomendado em quantidades de até 5% em relação ao seu substrato, no entanto, se o emprego de quantidades menores ainda resulta em boa atividade e eficiência no processo, pode ser uma economia para o processo, uma vez que a maioria das enzimas são ainda caras e nem sempre recuperadas ao final do processo.

Quanto aos demais parâmetros, nota-se uma pequena variação nos valores otimizados para ambos os farelos, no entanto, esta variação não alcança os 25%. A

temperatura ótima ficou em torno de 55 °C, coerente com a faixa de temperatura onde a enzima possui atividade ótima, segundo o fabricante. A razão sólido:solução em torno de 1:60 (m:v). Para ambos os farelos a extração enzimática de proteínas foi satisfatória, sendo alcançados rendimentos máximos acima de 90% (JIANG *et al.*, 2013; MIRANDA, 2012; SARI, 2015).

Portanto, a extração enzimática de proteínas para obtenção de hidrolisado proteico mostra-se como uma alternativa promissora e ecologicamente correta para aproveitamento de resíduos agroindustriais ricos em proteínas, com destaque para os farelos de amêndoa de macaúba, o que contribui para a consolidação desta matéria prima no agronegócio brasileiro e não só, mas pelo mundo afora.

5.2.4 Comparação dos resultados para a extração química e enzimática de proteínas

Como forma de comparação entre os métodos investigados de extração de proteínas, químico e enzimático, para os farelos de amendoim e amêndoa de macaúba, a Tabela 45 apresenta os resultados de rendimento maximizado, obtidos para cada método de extração nas condições otimizadas para os parâmetros de processo.

Tabela 45 – Rendimentos maximizados de extração de proteínas dos farelos de amendoim e amêndoa de macaúba por via química e enzimática.

Farelo	Parâmetros ótimos - químico			Rendimento experimental (%)	
	Temperatura (°C)	Razão sólido:solução (m:v)	pH	Químico	
Amendoim	25	1:53	10,33	98,92±1,09	
Amêndoa	25	1:48,5	10,38	65,58±0,73	
Farelo	Parametros ótimos - enzimático				Rendimento experimental (%)
	Temperatura (°C)	Razão sólido:solução (m:v)	Enzima (% v/m)	pH	Enzimático
Amendoim	62,50	1:54	2,57	7,5	95,62±1,61
Amêndoa	48,35	1:64	2,06	7,5	93,79±0,83

Na Tabela 45 nota-se que o método de extração enzimático foi satisfatório para ambos os farelos, porém, o método químico resultou em melhor rendimento

para o farelo de amendoim, comparável ao método enzimático, mas em rendimento bem inferior para o farelo de amêndoa, chegando a ser 30% menor o rendimento obtido via química, quando comparado com o método enzimático.

Os resultados de rendimento obtidos pelos dois métodos de extração investigados, ao nível de significância de 0,05, nota-se que para o farelo de amendoim, os dois métodos de extração de proteínas mostram-se iguais. No entanto, para o farelo de amêndoa, os métodos de extração de proteínas químico e enzimático resultaram em rendimentos estatisticamente diferentes.

A partir deste resultado, concluiu-se que o tipo de matéria prima vegetal (composição, características estruturais, tipo de proteínas) tem influência no desempenho do processo de extração, desta forma, o processo industrial de extração de proteínas deve ser investigado e otimizado considerando as particularidades de cada material vegetal.

Acredita-se que além da composição diferente em fibras e carboidratos, a de proteínas também pode influenciar na extração de proteínas do diferentes farelos. Mesmo apresentado mesma tendência as curvas de solubilidade para as proteínas do farelo de amendoim e amêndoa, percebe-se que a solubilidade das proteínas da amêndoa são mais sensíveis as mudanças das condições do meio, o que pode atrapalhar o processo de extração. Corroborando isso, têm-se os resultados dos estudos cinéticos que demonstram que a extração de proteínas do farelo de amêndoa é menor, mas influenciada pela temperatura e teor de sal na solução de extração.

Pode-se dizer ainda, que no processo enzimático de extração de proteínas, o bom rendimento de processo obtido para ambos os farelos está associado à ação eficiente e específica da protease, que resulta em moléculas proteicas de menor tamanho e por isso mais fáceis de ser extraídas e solubilizadas no meio de extração (JIANG *et al.*, 2013; MIRANDA, 2012; SARI, 2015).

O emprego da protease para hidrolisar as proteínas dos farelos contribuiu visivelmente para a mudança do perfil de solubilidade das proteínas do farelo de amêndoa. ZHAO *et al.* (2010) notaram aumento de mais de 100% no índice de

solubilidade de proteínas do farelo de amendoim em pH 10, quando o pré-tratamento de hidrólise enzimática foi aplicado a matriz.

A temperatura de extração para os dois processos foram muito diferentes, uma vantagem para o método químico, pois mesmo na temperatura ambiente, as proteínas foram extraídas dos farelos com rendimento de pelo menos 65%, o que confere economia de energia para o processo, no entanto, temperaturas brandas, de cerca de 55°C são consideradas ótimas para o processo enzimático.

De um modo geral as condições de extração via enzimática são mais brandas que as empregadas no método químico, onde meio mais alcalino de extração é utilizado, o que demanda mais etapas para purificação do extrato obtido e tratamento dos efluentes gerados, sendo uma vantagem do método enzimático o emprego de um reagente biológico e por isso biodegradável, que quando inativado não influencia nas características do produto final, devido sua baixa concentração, não sendo necessário a eliminação deste do produto ou efluentes gerados, eliminando etapas de purificação e tratamentos, resultando em economia, eficiência e sustentabilidade para o processo produtivo.

Contudo, diante dos resultados apresentados, ambos os métodos investigados resultaram em rendimentos satisfatórios, cada um com suas particularidades, no entanto, sendo opções de processo para a extração de proteínas de matrizes vegetais.

O presente capítulo contribui para demonstrar e esclarecer como o resíduo gerado no processamento de óleo de macaúba pode ser aproveitado industrialmente para gerar produtos de alto valor agregado e aplicação industrial, considerando os potenciais e características dos farelos de macaúba.

6.CONCLUSÃO

A metodologia de extração enzimática mostrou-se aplicável para ambos os farelos investigados. Os rendimentos máximos de extração proteica foram maiores que 90%, tanto para o farelo de amendoim quanto para o farelo de amêndoa de macaúba.

Todos os parâmetros de processo investigados, a saber, temperatura, proporção sólido:solução de extração e quantidade de enzima foram significativos (intervalo de confiança de 95%) para a maximização do rendimento de extração, nas faixas investigadas.

Os parâmetros investigados foram otimizados nas seguintes condições para o farelo de amendoim e amêndoa, respectivamente: razão sólido:solução de 1:54 (v/m), quantidade de enzima de 2,57% e temperatura de 62,5°C e razão sólido:solução de 1:64 (m:v), quantidade de enzima de 2,06% e temperatura de 48,38°C.

Destaca-se que a quantidade de enzima que maximizou o rendimento não foi a quantidade máxima estudada, sendo que a quantidade de até 2,5% é suficiente para ação da enzima sobre as proteínas, resultando em máximo de extração, com eficiência e economia.

É importante destacar, que na comparação entre os métodos de extração, químico e enzimático, apesar de temperatura menor no método químico garantir satisfatório rendimento de extração (acima de 65%), na extração enzimática, ambos os farelos apresentaram rendimento máximo acima de 90%, refletindo a especificidade da enzima e sua eficiência nos processos industriais, além de ocorrer em condições brandas e garantir condições de processamento mais sustentáveis, com menos etapas de purificação e tratamento de resíduos. Adicionalmente, é importante mencionar que a composição dos farelos pode influenciar na extração das proteínas via química, conforme se pode notar na diferença de rendimento máximo obtido para a extração de proteínas do farelo de amêndoa (65%) e de amendoim (98%), sendo importante avaliar a viabilidade de aplicação do processo químico para cada tipo de matéria prima diferente.

De um modo geral, a extração de proteínas, via química e enzimática, de farelos de amêndoa de macaúba e amendoim mostram-se como potencial alternativa para aproveitamento de subprodutos do processamento de óleos, com agregação de valor aos mesmos e produção de produtos de interesse comercial e com alto valor agregado como as proteínas vegetais e hidrolisado proteico.

7. CONCLUSÃO GERAL

Os resultados desse trabalho são importantes visto que na literatura não se encontram disponíveis estudos sobre a otimização da extração química e hidrólise enzimática de proteínas no aproveitamento de farelos de amêndoa e polpa de macaúba, associando fenômenos cinéticos e termodinâmico do processo.

Os farelos de amêndoa de macaúba apresentam elevado potencial para o aproveitamento de biomoléculas como as proteínas e fibras alimentares, componentes fundamentais na dieta humana e animal, sendo também excelente fonte de biocomponentes nitrogenados para as indústrias química, de cosméticos e fármacos.

Os farelos da amêndoa e da polpa de frutos da macaúba mostraram perfis de solubilidade distintos, mas com P.I. semelhante à maioria das proteínas vegetais, inclusive a do amendoim. O p.i. situou-se no geral entre os pHs de 4 e 5, sendo a maior solubilidade observada na região de pH alcalino. No P.I. a presença de sal na solução de extração aumentou a solubilidade.

As proteínas dos diferentes farelos podem ser extraídas com pelo menos 70% de rendimento a partir do pH 10, na presença de água deionizada.

De um modo geral, o estudo dos efeitos dos parâmetros de processo, a saber, razão de sólido:solvente, concentração salina do solvente (NaCl), temperatura e pH sobre a solubilidade proteica visando maximizar o rendimento de extração de proteínas mostraram que os parâmetros mais significativos e positivos no rendimento do processo de extração foram nomeadamente a razão do sólido:solvente e o pH. Enquanto a concentração salina apresentou efeito negativo, ou seja, o aumento da concentração do sal na solução diminui o rendimento, por isso, a água deionizada favoreceu o rendimento do processo, enquanto que a temperatura apresentou efeito moderado na faixa investigada.

Os parâmetros de processo, a saber, razão sólido:solvente e pH para a extração de proteínas a 25 °C, empregando água deionizada, foram otimizados para os diferentes farelos, segundo os valores, para o farelo de amendoim, razão 1:53,6 (m:v) e pH de 10,33 com rendimento máximo de 99,14% de proteínas; para o farelo de amêndoa de macaúba o maior rendimento de 64,34% foi obtido usando a razão de 1:48,46 (m:v) e pH de 10,38 e para o farelo de polpa de macaúba os parâmetros

ótimos foram razão de 1:82,40 (v:m) e pH de 10,40 resultando em um rendimento máximo de 99,03%.

O comportamento cinético da extração das proteínas do farelo de amendoim foi muito semelhante ao comportamento observado para a extração a partir do farelo de polpa de macaúba, onde bons rendimentos são obtidos e menos se percebe a influência da temperatura e concentração salina no aumento do rendimento. Os modelos cinéticos empregados, nomeadamente de dois estágios, de segunda ordem e modelo difusivo apresentaram bom desempenho na descrição do comportamento do processo de extração de proteínas a partir dos farelos, sendo obtidos R^2 acima de 95% para a maioria dos casos. De um modo geral, o processo de extração de proteínas a partir das matrizes mostra-se rápido e eficiente, considerando as condições de processo empregadas, sendo observado que em 20 minutos de processo, os sistemas apresentavam-se em equilíbrio, onde pelo menos 65% das proteínas foram extraídas.

No estudo termodinâmico da extração de proteínas a partir dos farelos pode ser observado que o processo foi espontâneo, endotérmico e favorável. Além disso, apesar do aumento de temperatura favorecer a extração de proteínas na amêndoa, o valor de ΔG é menos negativo se comparado aos outros farelos, confirmando também a extração menos favorecida para as proteínas da amêndoa de macaúba. Os dados obtidos foram satisfatórios e relevantes para o delineamento de processos industriais que visam o aproveitamento integral e eficiente do potencial proteico dos farelos residuais do processamento de óleos vegetais a partir da macaúba.

A metodologia de extração enzimática mostrou-se aplicável para os farelos de amendoim e amêndoa de macaúba, quando utilizada a enzima proteolítica Alcalase. Os rendimentos máximos de extração proteica foram maiores que 90%. Todos os parâmetros de processo investigados, a saber, temperatura, proporção sólido:solução de extração e quantidade de enzima foram significativos (dentro do intervalo de confiança de 95%) para a maximização do rendimento de extração, nas faixas investigadas.

Os parâmetros ótimos foram encontrados como sendo os seguintes para o farelo de amendoim e amêndoa, respectivamente: razão sólido:solução de 1:54

(m:v), quantidade de enzima de 2,57% e temperatura de 62,5°C e razão sólido:solução de 1:64 (m:v), quantidade de enzima de 2,06% e temperatura de 48,38°C.

A enzima *Alcalase* se mostrou uma alternativa eficiente na hidrólise e extração das proteínas do farelo de amendoim e principalmente para amêndoa de macaúba, pois se verificou um aumento do rendimento de pelo menos 30%, entre a extração química e enzimática. Sendo o emprego de enzimas uma alternativa de extração ambientalmente correta e mais sustentável.

De modo geral, os resultados obtidos nos estudos de otimização de parâmetros de processo, cinético de transferência de massa e de termodinâmica sugerem que matérias primas agroindustriais, especificamente os resíduos agroindustriais, ricos em biocomponentes de alto valor agregado podem ser utilizados como fontes destas biomoléculas para aplicação em diferentes áreas e indústrias, a fim de gerar sistemas agroindustriais mais sustentáveis e eficientes, com valorização dos resíduos e produtos obtidos.

8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Os estudos aqui apresentados com destaque para a solubilidade que é uma das primeiras etapas no estudo para aproveitamento de biomoléculas dos resíduos da agroindústria, sendo por isso verificado que estes são potenciais em proteínas e carboidratos. Por isso em estudo futuros será necessário:

Realizar mais estudos sobre o uso de diferentes enzimas celulósicas e proteolíticas na extração e aproveitamento de diferentes componentes dos farelos de macaúba, proteínas, fibras, carboidratos.

Avaliar e caracterizar o processo de obtenção dos hidrolisados proteicos, assim como possíveis aplicações.

Caraterização do perfil dos aminoácidos presentes e fracionamento das proteínas de amêndoa e polpa de macaúba, a fim de avaliar o seu impacto na solubilidade e conseqüentemente sua influencia no rendimento do processo de extração.

Realizar estudo para avaliação as propriedades funcionais tecnológicas das proteínas e hidrolisados obtidos, possibilitando assim uma visão mais precisa do valor nutricional destas preparações, ou uma aplicação mais adequada em diferentes áreas como fontes de matérias primas nitrogenadas.

Além disso, propõe-se a realização de testes piloto a fim de ajustar as condições para produção em larga escala na extração de proteínas de matrizes vegetais.

Sugere-se ainda a realização de estudos que envolvam a utilização de métodos enzimáticos em escala piloto, com o objetivo de se avaliar a viabilidade econômica de sua aplicação industrial.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C. da. GODOI, A. R. de. CARMO, C.A.; EDUARDO, J. L. P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *R. Bras. Zootec.* v.37, suplemento especial p.260-258, 2008.

ABDULLAH, M. & KOC, A. B. Kinetics of ultrasound-assisted oil extraction from black seed (*nigella sativa*). *Journal of Food Processing and Preservation* 37, p. 814–823, 2013.

ABRAPALMA. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE ÓLEO DE PALMA(www.abrapalpa.) acesso em maio 2016.

AFIFY, A. E-M. M.R.; RASHED, M. M.; MAHMOUD, E. A.; EL-BELTAGI, H. S. Effect of Gamma Radiation on Protein Profile, Protein Fraction and Solubility's of Three Oil Seeds: Soybean, Peanut and Sesame. *Not Bot Horti Agrobo*, 39(2): 90-98, 2011.

AGUIAR, C. L.; SANTOS, S. C. T dos.; FREIXO, J. M.; OKUDA, M. H. Multivariate statistical method in optimization of protein extraction from soybean flour with dairy whey. *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 25, n. 2, p. 171-180, Mar./Apr. 2009.

AHMIA, A. C.; DANANE, F.; BESSAH, R. & BOUMESBAH, I. Raw material for biodiesel production. Valorization of used edible oil. *Revue des Energies Renouvelables* Vol. 17. N°2, p.335 – 343, 2014.

AIKING, H. Future protein supply. *Trends in Food Science & Technology* 22, p. 112-120, 2011.

AL-FARSI, M. A & LEE, C. Y. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry* 108, pg. 977–985, 2008.

ALMEIDA, F. H. L, de. Desenvolvimento, acúmulo de óleo e armazenamento de coco de macaúba. **Dissertação de Mestrado** (em Produção Vegetal) do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido da UNIMONTES. 98f, Montes Claro-MG, 2014.

AMARNI, F. & KADI, H. Kinetics study of microwave-assisted solvent extraction of oil from olive cake using hexane. Comparison with the conventional extraction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 11, p.322–327, 2010.

AMIN, S. K. HAWASH, S.; DIWANI, G. E.; AND RAFEI, S.E.. Kinetics and Thermodynamics of Oil Extraction from *Jatropha Curcas* in Aqueous Acidic Hexane Solutions. *Journal of American Science*, 6(11), 2010.

ANDUALEM, B. & GESSESSE, A.; Effects of Salt (NaCl) Concentrations on the Functional properties of defatted Brebra (*Millettia ferruginea*) Seed Flour. *Middle-East Journal of Scientific Research* 13 (7): 889-897, 2013.

ANUARIO de AGROENERGIA. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (Brasil). Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e

biocombustíveis: 2014 .

AOAC - Official methods of analysis of the Association of Official analytical chemist. Editor: Horwitz W. 13th Ed. Washington, DC.2009.

ARANHA, C.P.M. Caracterização dos óleos extraídos de sementes de laranjas (*Citrus sinensis*) como aproveitamento de resíduos agroindustriais. **Dissertação de mestrado** de Ciência e Tecnologia de Alimentos (Universidade Estadual Paulista-Júlio de Mesquita Filho) ff-76. São Jose de Rio Preto, SP. 2011.

ARAUJO, W. A. G.; SOBREIRA, G. F. Farelo de amendoim na alimentação de não ruminantes. **Revista Electronica Nutritime**, v.5 n.2 p. 546-557, Mar/Abr 2008.

AROGUNDADE, L.A.; SODEINDE, K. O.; PETERS, A. K. Influence of pH, some chloride and phosphates on emulsifying and solubility properties of cashew kernel (*anacardium occidentale*) protein isolate. **Journal of Natural Sciences, Engineering and Technology**, v. 8(2), pg. 56-68, 2009..

AYOOLA, P.B., ADEYEYE,A AND ONAWUMI,O.O. Chemical evaluation of food value of groundnut (*Arachi hypogaea*) seeds. **American Journal of Food and Nutrition**. 2(3): pg. 55-57, 2012.

AZEVEDO FILHO, J. A; COLOMBO, C. A.; BERTON, L. H. C. Macaúba: palmeira nativa como opção bioenergética. **Pesquisa & Tecnologia**, vol. 9, n. 2, Jul-Dez 2012.

AZEVEDO, C. C. Modificação química das proteínas de amêndoas da munguba (*Pachira aquática Aubl*): propriedades funcionais. **Dissertação de Mestrado** (de Ciência e Tecnologia de Alimentos) da UFP. 85f. JOÃO PESSOA – PB, 2008.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I.S.M.; RAHMAN, M.M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A .; GHAFOR, K.; NORULAINI, N.A.N.; OMAR, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering** 117, 426–436, 2013.

BACHIR bey, M.; MEZIAN, L.; BENCHIKH, Y.; LOUAILECHE, H.. Deployment of response surface methodology to optimize recovery of dark fresh fig (*Ficus carica* L., var. Azenjar) total phenolic compounds and antioxidant activity. **Food Chemistry** 162, p. 277–282, 2014.

BAIANO, A. Recovery of Biomolecules from Food Wastes — A Review. **Molecules** 2014, 19, 14821-14842, 2014.

BALBINOT, N. M. S. Produção de carvão vegetal ativado e compósitos termoplásticos a partir de coprodutos da cadeia produtiva do biodiesel de girassol. **Dissertação de Mestrado**, Área de Tecnologia Ambiental da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, 94f, 2007.

BANASZKIEWICZ, T. Nutritional Value of Soybean Meal. Siedlce University, Natural Faculty, Poland. (2011). Disponível em <http://cdn.intechweb.org/pdfs/19972.pdf>, Acesso em 21 de Maio 2016.

BAS, D.; BOYACI, I. H. Modeling and optimization I: Usability of response surface

methodology, *Journal of Food Engineering* 78, pg. 836–845, 2007.

BERGMANN, J. C.; TUPINAMBA, D. D.; COSTA, O. Y. A.; ALMEIDA, J. R. M. BARRETO, C. C.; QUIRINO, B. F. Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 21, p. 411–420, 2013.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* 76, p.965–977, 2008.

BIRD, R. B.; STEWART, W. E.; LIGHTFOOT, E. N. Fenómenos de transporte- Segunda edição, 1045f. Limusa Wiley, México, 2006.

BOGDANOV, M. G. and SVINYAROV, I.; Ionic liquid-supported solid–liquid extraction of bioactive alkaloids. II. Kinetics, modeling and mechanism of glaucine extraction from *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae) *Separation and Purification Technology* 103, pg. 279–288, 2013.

BOLAND, M.J.; RAE, A.N.; VEREIJKEN, J.M.; MEUWISSEN, M.P.M.; FISCHER, A.R.H.;VAN BOEKEL, M.A.J.S.; SHANE M. RUTHERFURD, S.M.; GRUPPEN, H.;MOUGHAN, P.J. & HENDRIKS, W.H. The future supply of animal-derived protein for human consumption. *Trends in Food Science & Technology* 29, p. 62-73, 2013.

BOMFIM, M.A.D.; SILVA, M. M.C.; Dos SANTOS, S. F. Potencialidades da utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de caprinos e ovinos. *Tecnol. & Ciên. Agropec*, João Pessoa, v.3, n.4, p.15-26, dez. 2009.,

BOND, M., MEACHAM, T., BHUNNOO, R. AND BENTON, T.G. Food waste within global food systems. *A Global Food Security report*, 2013. (www.foodsecurity.ac.uk).

BORA, P. S. & ROCHA, R. V. M. Macaiba palm: fatty and amino acids composition of fruits. *Cienc. Tecnol. Aliment*. Vol. 4, No 3 pp 158-162, 2004.

BOS, H. L. and SANDERS, J. P. M. Perspective: Raw material demand and sourcing options for the development of a bio-based chemical industry in Europe. Part 1: Estimation of maximum demand. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 7:246–259, 2013.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S. & HUNTER, W. G. Statistics for Experimenters. Design, Innovation and Discovery. Second Edition. A JOHN WILEY & SONS INC. PUBLICATION, 2005.

BOYE, J. I. & BARBARA, C. Protein Processing in Food and Bioproduct Manufacturing and Techniques for Analysis **Cap 3. In Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing. Edited by Nurhan Turgut Dunford** .A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, 2012.

BRASIL, J.L. Uso do planejamento estatístico de experimentos aplicados a sistemas de adsorção. **Tese de doutorado** do Programa de Pós-Graduação Química do Instituto de Química da UFRGS. 75f, Porto Alegre - RS, 2010.

BUCIĆ-KOJIC, A.; PLANINIĆ, M.; TOMAS, S.; BILIĆ, M.; VELIĆ, D. Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering* 81, p.236–242, 2007

BUCIĆ-KOJIC, A.; SOVOVA, H.; PLANINIĆ, M.; TOMAS, S. Temperature-dependent kinetics of grape seed phenolic compounds extraction: Experiment and model. *Food Chemistry* 136, pg. 1136–1140, 2013.

BUCKO, S.; KATONA, J.; POPOVI, L.; VASTAG, Z.; PETROVIC, L.; VUCINICE-VASIC, M. Investigation on solubility, interfacial and emulsifying properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed protein isolate. *LWT - Food Science and Technology* 64, 609-615, 2015.

CALDEIRA, R. R.; ROCHA, A. S.; BRANDÃO, E. G.; KODAMA, G.; MIRANDA, J. P. H. V.; SOUTO, P. L. G.; SILVERIO, P. S.; SANTOS, R. L. C.; MARTINS, T.; CABRAL FILHO, S. L. S. Caracterização da torta da amêndoa da macaúba em diferentes níveis de substituição ao milho na alimentação de ruminantes. *VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal – “Trabalhos Científicos BOVINOS” 23 a 26 de setembro de 2014* - Estância de São Pedro, SP – Brasil. 2014.

CAMARGO, L. F. R.; MOREIRA, V.; VACCARO, G.L. R. Aplicação das técnicas de planejamento e análise de experimentos no desenvolvimento de novos produtos em uma empresa de saneantes. *Estudos Tecnológicos* - Vol. 5, nº 3: 404-420, set/dez. 2009.

CAMPOS-MONDRAGÓN, M. G.; DE LA BARCA, A.M. C.; DURÁN-PRADO, A.; CAMPOS-REYES, L. C.; OLIART-ROS, R. M.; ORTEGA-GARCÍA, J.; MEDINA-JUÁREZ, L. A.; AND ÂNGULO, O. Nutritional composition of new peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. *Grasas y aceites*, 60 (2), abril-junho, p.161-167, 2009.

CAPOBIANGO, M. Extração das proteínas do fubá de milho e obtenção de hidrolisados proteicos com baixo teor de fenilalanina. *Dissertação de Mestrado* (Ciência de alimentos) da Faculdade de farmácia da UFMG. 79f. Belo horizonte-MG, 2006.

CERUTTI, W. G. Torta de amendoim na suplementação de vacas em lactação a pasto. *Dissertação de Mestrado* (Em Zootecnia) da Universidade Federal de Santa Maria. 75f. Santa Maria-RS, 2013.

CHAN, C-H.; YUSOFF, R.; NGOH, G-C. Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. (Reviw). *Chemical Engineering Research and Design* 92, p.1169–1186, 2014.

CHANG, A. S.; SREEDHARAN, A.; SCHNEIDER, K. R. Peanut and peanut products: A food safety perspective. *Food Control* 32, pg. 296-303, 2013.

CHIESA, S. & GNANSOUNOU, E. Protein extraction from biomass in a bioethanol refinery – Possible dietary applications: Use as animal feed and potential extension to human consumption. *Bioresource Technology* 102, p.427–436, 2011.

CHRISTOPHER, N. & KUMBALWAR, M. Enzymes used in Food Industry. A Systematic Review. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. Vol.4 (10), October 2015. DOI:10.15680/IJIRSET.2015.0410073.

CICONINI, G. Caracterização de frutos e óleo de polpa de macaúba dos biomas Cerrado e Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Dissertação (de Mestrado)** de Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco. f 150, Campo Grande -M S, Fevereiro – 2012.

CISSÉ, M.; BOHUON, P.; SAMBE, F.; KANE, C.; SAKHO, M.; DORNIER, M Aqueous extraction of anthocyanins from Hibiscus sabdariffa: Experimental kinetics and modeling. *Journal of Food Engineering* 109, p. 16–21, 2012.

COIMBRA, M.C. & JORGE, N. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jervá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruits. *Food Research International* 44, p. 2139–2142, 2011.

CORREIA, B. R. Torta de amendoim, oriunda da produção do biodiesel, na terminação de machos nelore confinados. **Tese de Doutorado** em ZOOTECNIA do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 100f. Itapetinga, -BA. UESB. 2014.

COSTA JÚNIOR, M. B. da. AROUCA, C. L. C.; MACIEL, M. P.; AIURA, F. S.; FONTES, D. O.; ROSA, B. O.; LIMA, C. A.; FERNANDES, I. S. Torta da polpa da macaúba para suínos em terminação. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, Salvador, v.16, n.2, p.325-336 abr./jun., 2015.

COULSON & RICHARDSON'S. Chemical engineering. Particle technology and Separation processes. Volume 2.Fifth edition, 1209f, 2002.

CUNGUARA, B., GARRETT, J., DONOVAN, C. E CÁSSIMO, C. Análise situacional, constrangimentos e oportunidades para o crescimento agrário em Moçambique. Maputo, Moçambique: **Direção de Economia, Ministério da Agricultura**, 2013;

CURTIS, R.A.; LUE, L. A molecular approach to bioseparations: Protein–protein and Protein–salt interactions. *Chemical Engineering Science* 61 907 – 923, 2006.

DAMODARAN, S.; PARKIN, N.L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ªed.–Editora Artmed, 2010. Porto Alegre. 900p. ISBN: 9788536322483.

DAGOSTIN, J.L.A.; CARPINÉ, D.; CORAZZA, M. L. Extraction of soybean oil using ethanol and mixtures with alkyl esters (biodiesel) as co-solvent: Kinetics and thermodynamics. *Industrial Crops and Products*. 74, p. 69–75; 2015.

DAMODARAN, S.; PARKIN, N.L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ªed.–Editora Artmed, 2010. Porto Alegre. 900p. ISBN: 9788536322483.

DAY, L. Proteins from land plants e Potential resources for human nutrition and food Security. *Trends in Food Science & Technology* 32, 25-42, 2013.

DE SOUZA, V.H.A.; DOS SANTOS, L.T.; CAMPOS, A.F.; CAROLINO, J.; Análise do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB): Resultados e Críticas. **Revista de Administração Geral**, v.1, n.1, p.23 - 41, 2015.

DESSIMONI-PINTO, N. A. V.; SILVA, V. M. da; BATISTA, A. G.; VIEIRA, G.; SOUZA, C. R. de. DUMONT, P. V.; SANTOS, G. K. M dos. Características físico-químicas da amêndoa de Macaúba e seu aproveitamento na elaboração de barras de cereais. **Alim. Nutr.** v.21, n.1, p. 79-86, Araraquara, SP jan./mar. 2010.

DHINGRA, D.; MONA MICHAEL, M.; RAJPUT, H. & PATIL, R.T. Dietary fibre in foods: a review. **J Food Sci Technol**, 49(3):255–266, May–June 2012. DOI 10.1007/s13197-011-0365-5.

DIZGE, N.; AYDINER, C.; DEMIRBAS, E. KOBYA, M.; KARA, S. Adsorption of reactive dyes from aqueous solutions by fly ash: Kinetic and equilibrium studies. **Journal of Hazardous Materials** 150, p. 737–746, 2008.

ESSA, Y.R.; ABD ELHADY R. S., KASSAB, H & GHAZI, A. Isolation and Characteristizaten of Protein Isolated from Sesame Seeds (*Sesamum indicum*) Meal. **Weber Agricultural Research & Management**, Vol. 1 (1), Article ID warm_126, 160-168, 2015.

FAO BRASIL. O estado da segurança alimentar e nutricional no Brasil. Um retrato multidimensional, Relatório 2014, Brasília-2014.

FAO, 2014(a) Food and Nutrition in Numbers 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2014.

FAO, IFAD and WFP. 2014 (b). The State of Food Insecurity in the World 2014. Strengthening the enabling environment for food security and nutrition. Rome, 2014.

FAO, WFP and IFAD. The State of Food Insecurity in the World 2012. Economic growth is necessary but not sufficient to accelerate reduction of hunger and malnutrition. Rome, 2012.

FAO. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. **FAO, food and nutrition paper 92**. Rome, 2013(a).

FAO. The State of Food and Agriculture. Food systems for better nutrition. Rome, 2013(b).

FAO. The State of Food and Agriculture. Innovation in family farming. Rome, 2014(b).

FELLOWS, P.J. Food Processing Technology- Principles and Practice. Third Edition, 2000.

FERNANDES, F. M.; SILVA, M. S.; LIMA, A. M. F.; ROCHA, A. M.; SOARES, P. M.; KONISH, F. Biodiesel no mundo e no brasil: situação atual e cenários futuros. **AGRENER GD 2015. 10º Congresso sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural**. 11 a 13 de novembro de 2015. Universidade de São Paulo – USP – São Paulo, 2015.

FERREIRA, A. N.; SANTOS, C. P. A. DOS; COSTA, G. L. DE A.; GEBARA, K. S. Utilização do extrato de bocaiúva (*acrocomia aculeata*) como um alimento funcional do tipo “shake”. *Interbio* v.7 n.1 2013.

FERREIRA, S. L.C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J.M.; BRANDÃO, G. C.; SILVA, E.G.P. DA.; PORTUGAL, L.A.; REIS, P.S. DOS. SOUZA, A.S.; SANTOS, W.N.L. DOS. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta* 597, p. 179–186, 2007.

FIRATLIGIL-DURMUS, E.; EVRANUZ, O.; Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*) - *Food Science and Technology (LWT)* 43, p.226–231, 2010.

FONSECA, M. P. da.; GERASEEV, L. C.; RUFINO, L. M. A.; GARCIA, I. F. F.; SOUZA, R. M. de ; NETO, P. P. C. Use of macaúba cake replacing corn on carcass characteristics and body measurements of Santa Inês lambs. *R. Bras. Zootec.*, v.41, n.5, p.1231-1235, 2012.

FONTANARI, G. G.; JACON, M. C.; PASTRE, I. A.; FERTONANI, F. L.; NEVES, V. A.; BATISTUTI, J. P. Isolado proteico de semente de goiaba (*Psidium guajava*): caracterização de propriedades funcionais. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Campinas, 27(supl.): p.73-79, ago. 2007.

FRANCO, L. F. M. PESSÔA FILHO. P.D.A. On the solubility of proteins as a function of pH: Mathematical development and Application. *Fluid Phase Equilibria* 306, p.242– 250, 2011;

FREITAS, A.C.; BALEEIRO, F.C.F.; FONSECA, R.F.; BERTUCCI NETO, V; PINTO, G.A.S.; FARINAS, C.S. Bioprocess development to add value to canola cake used as substrate for proteolytic enzyme production. *Food and Bioprocess Processing*. 95,173–182,2015.

FREITAS, J. B. Qualidade nutricional e valor proteico da amêndoa de baru em relação ao amendoim, castanha-de-caju e castanha-do-pará. **Dissertação de Mestrado** (em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, 61f. Goiania, 2009.

FREITAS, J. B.; FERNANDES, D. C.; CZEDER, L. P.; LIMA, J. C. R.; SOUSA, A. G. O.; NAVES, M. M. V. Edible seeds and nuts grown in Brazil as sources of protein for human nutrition. *Food and Nutrition Sciences*, 2012, 3, p. 857-862, 2012.

GALANTE, J. V. R. Vegetable protein functionality from milk analogue to fiber. Thesis to obtain the Master of Science Degree in Biological Engineering.100p. 2013.

GBADAMOSI S. O., ABIOSE, S.H. AND; ALUKO, R.E. Solubilization, amino acid composition and electrophoretic characterization of Conophor nut (*Tetracarpidium conophorum*) proteins. *International Food Research Journal* 19(2): pg. 651-656, 2012.

GEANKOPLIS, C. J. Processos de transporte y Operaciones unitárias.1024f. TERCERA EDICIÓN, MÉXICO, 1998.

GHALY, A. E. & ALKOAİK, F. N. Extraction of Protein from Common Plant Leaves for Use as Human Food. **American Journal of Applied Sciences** 7 (3): 331-342, 2010.

GHATAK, S.K.; SEN, K. Peanut proteins: Applications, ailments and possible remediation. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry** 19 pg. 369–374, 2013.

GIONGO, J. L. Caracterização e Aplicação de proteases produzidas por linhagens de *Bacillus sp.* **Dissertação de Mestrado** (em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) da UFRGS. 95f. Porto Alegre, 2006.

GOMES, M.C.S.; STENZEL, M.; PEREIRA, N.C. Determinação das condições ótimas de reação de hidrólise Enzimática do farelo de soja desengordurado e tostado. **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**. SP. 2005.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. **Journal of Food Engineering** 117, p. 492–498, 2013;

GRACIANO, E. S. A. Estudos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de amendoim (*Arachis hypogaea l.*) submetidas à deficiência hídrica. **Dissertação de Mestrado** (em Biotecnologia e Fisiologia Vegetal) da UFRP. 68f. Recife-PE, 2009.

GUANG, C.; PHILLIPS, R. D.; AND SHANG, J. Functional and nutritional properties of peanut and cowpea proteins. **Journal of Food, Agriculture & Environment** Vol.10 (3&4), pg, 19-25. 2012.

HARINDER, P. S. M. Biofuel Co-products as Livestock feed. Opportunities and challenges. **FAO**, Roma, 2012.

HERODEZ, S. S.; HADOLIN, M.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves. **Food Chemistry** 80, 275–282, 2003.

HIANE, P. A. Estudo nutricional, com ênfase em proteínas antinutricionais e tóxicas de amêndoas de bocaiuva espécie *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd do Estado do Mato Grosso do Sul. **Tese de Doutorado** em Ciências de Saúde da UFG/UFMS. 88f. Campo Grande-MS, 2006.

HIANE, P. A.; MACEDO, M. L. R.; SILVA, G. M.; NETO, J. A. B. Avaliação nutricional da proteína de amêndoas de bocaiúva, *acrocomia aculeata* (jacq.) Lodd., em ratos wistar em crescimento. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 191-206, jan./jun. 2006.(a).

HIANE, P. A.; MACEDO, M. L. R.; SILVA, G. M.; NETO, J. A. B. Chemical and nutritional evaluation of kernels of bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, 26(3): p. 683-689, jul.-set. 2006.(b)

HO, C. H. L.; CACACE, J. E.; MAZZA, G. Mass transfer during pressurized low polarity water extraction of lignans from flaxseed meal. **Journal of Food Engineering** 89, p. 64–71; 2008.

HOELTZ, M. Caracterização da contaminação fúngica e por micotoxinas em diferentes fases da cultura de amendoim (*Arachis hipogaea*, L.) produzido no rio grande do sul, Brasil. **Tese de Doutorado** (Microbiologia Agrícola) da UFRS. 134f. Porto Alegre, 2009.

HOJILLA-EVANGELISTA, M. P.; EVANGELISTA, R.L.; ISBELL, T. A.; SELLING, G. W. Effects of cold-pressing and seed cooking on functional properties of protein in pennycress (*Thlaspi arvense* L.) seed and press cakes. ***Industrial Crops and Products*** 45, p. 223–229, 2013.

HOJNIK, M.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. Extraction of lutein from Marigold flower petals e Experimental kinetics and modelling. ***LWT - Food Science and Technology*** 41, p. 2008-2016, 2008.

HORAX, R.; HETTIARACHCHY, N.; OVER, K.; CHEN, P.; GBUR, E. Extraction, fractionation and characterization of bitter melon seed proteins. ***J. Agric. Food Chem.***, 58, 1892–1897, 2010. DOI: 10.1021/jf902903s.

IBARZ, A. & BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Unit operations in food engineering. 885f. By CRC Press LLC, 2003.

ISLAM, M. N.; JO, Y-T.; JUNG, S-K.; PARK, J-H. Thermodynamic and kinetic study for subcritical water extraction of PAHs. ***Journal of Industrial and Engineering Chemistry*** 19, p. 129–136, 2013.

ISLAM, M. N.; JO, Y-T.; PARK, J-H. Determination of Partitioning Coefficient and Desorption Rate for Subcritical Water Extraction of PAHs. ***2012 2nd International Conference on Environmental and Agriculture Engineering. IPCBEE*** vol.37, 2012.

IVANOVA, P., CHALOVA, V., KOLEVA, L. AND PISHTIYSKI, I. Amino acid composition and solubility of proteins isolated from sunflower meal produced in Bulgaria. ***International Food Research Journal*** 20(6): 2995-3000, 2013.

IVANOVA, P.; CHALOVA, V.; KOLEVA, L.; PISHTIYSKI, I. and PERIFANOVA-NEMSKA, M. Optimization of protein extraction from sunflower meal produced in Bulgaria. ***Bulgarian Journal of Agricultural Science***, 18 (No 2), p. 153-160, 2012.

JARPA-PARRA, M.; BAMDAD, F.; WANG, Y.; TIAN, Z.; TEMELLI, F.; HAN, J.; CHEN, L. Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. ***LWT - Food Science and Technology*** 57, p. 461-469, 2014.

JEGANNATHAN, K.R & NIELSEN. P.H. Environmental assessment of enzyme use in industrial production. A literature review. ***Journal of Cleaner Production***. 42 228-240, 2013.

JIANG, L.; HUA, D.; WANG, Z.; XU, S. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. ***Food and Bioproducts Processing*** 88, p. 233–238, 2010.

JIDEANI, V. A.. Functional Properties of Soybean Food Ingredients in Food Systems, Soybean - Biochemistry, Chemistry and Physiology, Prof. Tzi-Bun Ng (Ed.), ISBN: 978-953-307-219-7. InTech, 2011 Available from:

<http://www.intechopen.com/books/soybean-biochemistry-chemistry-and-physiology/functional-properties-of-soybean-food-ingredients-in-food-systems>. 2011. Acessado em 21 de Abril de 2015.

JISHA, V.N.; SMITHA, R.B.; PRADEEP, S.; SREEDEVI, S.; UNNI, K.N.; SAJITH, S.; PRIJI, P.; JOSH, M.S.; BENJAMIN, S. Versatility of microbial proteases. **Advances in Enzyme Research**. Vol.1, No.3, 39-51, 2013. //dx.doi.org/10.4236/aer.2013.13005.

KALPANA, D. B.; VIDHYA, R.; JAGANMOHAN, R. Determination and isolation of protein from different fractions of defatted groundnut oil cake. **African Journal of Plant Science** Vol. 7(8), p. 394-400, August 2013.

KAMMERER, D. R.; KAMMERER, J.; VALET, R.; CARLE, R. Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients, **Food Research International** 65, 2–12, 2014.

KARACABEY, E.; BAYINDIRLI, L.; ARTIK, N. & MAZZA, G. Modeling solid–liquid extraction kinetics of *Trans-resveratrol* and *trans-e-viniferin* from grape cane **Journal of Food Process Engineering** 36, pg 103–112, 2013.

KAUR, D.; WANI, A. A.; OBEROI, D.P.S.; SOGI, D.S. Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology. **Food Chemistry** 108, pg.711–718, 2008;

KITANOVIĆ, S.; MILENOVIĆ, D.; VELJKOVIĆ, V.B. Empirical kinetic models for the resinoid extraction from aerial parts of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). **Biochemical Engineering Journal** 41, p.1–11, 2008.

KOLESAROVA, N.; HUTNAN, M.; BODIK, I.; AND SPALKOVA, V. Utilization of Biodiesel By-Products for Biogas Production. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Volume 2011.

KOSTIC, M. D.; JOKOVIĆ, N. M.; STAMENKOVIĆ, O. S.; RAJKOVIĆ, K. M.; MILIĆ, P. S.; VLADA B. VELJKOVIĆ, V. B. The kinetics and thermodynamics of hempseed oil extraction by n-hexane. **Industrial Crops and Products** 52, p.679–686, 2014.

KRISHNAN, K.R.; SIVARAJAN, M.; BABUSKIN, S.; ARCHANA, G.; BABU, P.A.S. SUKUMAR, M. Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. **Journal of Food Engineering** 117, p.326–332, 2013.

LATIF, S. & ANWAR, F. Effect of Aqueous Enzymatic Processes on Sunflower Oil Quality. **J Am Oil Chem Soc.** 86:393–400, 2009. DOI 10.1007/s11746-009-1357-8.

LATIF, S. & ANWAR, F. Aqueous enzymatic Sesame Oil and protein. **Food Chemistry**, n.125, p. 679-684, 2011.

LEE, Y. Manufacturing Soy-Protein Concentrates and Isolates by Membrane Technology. **International Journal of Agriculture Innovations and Research** Volume 3, Issue 4, ISSN (Online), p. 2319-1473, 2015.

LEIVA-CANDIA, D.E.; PINZI, S.; REDEL-MACÍAS, M.D.; KOUTINAS, A.; WEBB, C.; DORADO, M. P. The potential for agro-industrial waste utilization using oleaginous yeast for the production of biodiesel. *Fuel* **123**, pg 33–42., 2014.

LESCANO, C. H.; OLIVEIR, I. P.; SILVA, L. R.; BALDIVIA, D. S.; SANJINEZ-ARGANDONA, E. J.; ARRUDA, E, J.; MORAES, I. C. F.; E LIMA, F. F. Nutrients contents, characterization and oil extraction from *Acrocomia aculeate* (Jacq.) Lodd. fruits. *African Journal of Food Science*. Vol. 9(3), p. 113-119, March 2015.

LESTARI, D.; MULDER, W.; SANDERS, J. Improving *Jatropha curcas* seed protein recovery by using counter current multistage extraction. *Biochemical Engineering Journal* **50**, p. 16–23, 2010.

LEVENSPIEL, O. Chemical reaction engineering. Third Edition.684f. John Wiley & Sons, Inc. 1999.

LI, S.; YANG, X.; YANG, S.; ZHU, M.; WANG, X. Technology prospecting on enzymes: application, marketing and engineering. *Computational And Structural Biotechnology Journal*. **2** (3): 2012. E201209017. DOI: <http://DX.DOI.ORG/LO.5936/CSBJ.201209017>.

LIMA, E. R. A. Cálculo de propriedades físico-químicas de sistemas coloidais via equação de Poisson-Boltzmann.2008.153f. **Tese de Doutorado** (em Engenharia Química) do COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro-2008.

LIRA, F. F.; MACHADO, W., SANTOS, J. V. F. DOS; TAKAHASHI, L. S. A.; GUIMARÃES, M. F.; LEAL, A. C. Avaliação da Composição Centesimal de Frutos de Macaúba. Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia *BBR –Biochemistry and Biotechnology Reports - Especial* v. 2, n. 3, p. 17-20, 2013.

LIU, J; GASMALLA, M.A.A; LI, P.; YANG, R. Enzyme-assisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing and application. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **35**, 184–193, 2016

LIU, J.; GUAN, X.; ZHU, D.; SUN, J. Optimization of the enzymatic pretreatment in oat bran protein extraction by particle swarm optimization algorithms for response surface modeling. *LWT- Food Science and Technology* **41**, p. 1913–1918, 2008.

LIU, Y.; ZHAO, G.; REN, J.; ZHAO, YANG, B. Effect of denaturation during extraction on the conformational and Functional properties of Peanut protein Isolate, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Guangzhou, China, n. 12, p 375-380, 2011.

LOPES, R. V. V.; ROCHA, A.S.; SILVA, F. L. H. da.; GOUVEIA, J. P. G. de. Aplicação do planejamento fatorial para otimização do estudo da produção de fermentado do fruto da palma forrageira. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v.7, n.1, p.25-32, 2005.

LÓPEZ, L. E. Torta de algodão emite compostos orgânicos voláteis orgânicos tóxicos a *Meloidogyne incógnitas*. 2014.52f **Dissertação de mestrado** (Em Agronomia/ Fitopatologia) da Universidade Federal de Lavras.. Lavras- MG, 2014.

LORENZO, L. K. Improving the solubility of yellow mustard precipitated protein isolate in acidic aqueous solutions. **A thesis of Master of Applied Science (M.A.Sc.)** Graduate Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry University of Toronto. 166f. Toronto- Canada, 2008.

LUIS, R. de.; P´EREZ, M. D.; S´ANCHEZ, L.; LAVILLA, M.; CALVO, M. Kinetic and Thermodynamic Parameters for Heat Denaturation of Cry1A(b) Protein from Transgenic Maize (*Zea mays*). **Journal of Food Science**, Vol. 73, Nr. 6, 2008.

MA, T.; WANG, Q.; WU, H.; Optimization of extraction conditions for improving solubility of peanut protein concentrates by Response Surface Methodology. **Food Science and Technology**, Beijing, China. 43 p, 1450-1455 2010.

MACHADO, C. A. C.; SANJINEZ ARGANDONA, E. J.; HOMEM, G. R.; TOMMASELLI, M. A. G. Modelo de viabilização da produção do consórcio: macaúba (*Acrocomia aculeata*) e cana-de-açúcar (*saccharum officinarum*). **XXX ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO Maturidade e desafios da Engenharia de Produção: competitividade das empresas, condições de trabalho, meio ambiente.São Carlos, SP, Brasil, 12 a15 de outubro de 2010**, SP, 2010.

MACHADO, F. F.; COIMBRA, J. S. R.; ROJAS, E. E. G.; MINIM, L. A.; OLIVEIRA, F. C.; SOUSA, R. C. S. Solubility and density of egg white proteins: Effect of pH and saline concentration. **Food Science and Technology (LWT)** 40, p. 1304–1307, 2007.

MARIANO, R. G. B. Fracionamento e biotransformação de óleos obtidos a partir de frutos do cerrado: macaúba (*acrocomia aculeata*) e pequi (*caryocar brasiliense* Camb). **Tese de Doutorado** (em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) da Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 113 f. RIO DE JANEIRO, 2014.

MARTÍNEZ-MAQUEDA, D.; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; AMIGO, L.; MIRALLES, B.; & GMEZ-RUIZ, J. A. Extraction/Fractionation Techniques for Proteins and Peptides and Protein Digestion, Capitulo 2 *In Proteomics in Foods: Principles and Applications*, Editado por Toldr, F. e Leo, Nolle, L.M. L. Disponível em <www.springer.com/.../9781461456254-c1.pdf>. Acesso em 8 de Setembro de 2015, 16h e 34min.

MEZIANE, S. & KADI, H. Kinetics and Thermodynamics of Oil Extraction from Olive Cake. **J Am Oil Chem Soc.** 85: p.391–396. 2008.

MEZIANE, S.; KADI, H. & LAMROUS, O. Kinetic study of oil extraction from olive foot cake. **Grasas y Aceites**, 57 (2), p. 175-179, Abril-Junio 2006.

MILI, P. S.; RAJKOVI, K. M.; BEKRI, D. M.; STAMENKOVI, O. S. VELJKOVI, V. B. The kinetic and thermodynamic analysis of ultrasound-extraction of minerals from aerial partsof white lady’s bedstraw (*Galium mollugo* L.). **Chemical Engineering Research and Design** 92, 1399–1409, 2014.

MILIC, P. S.; RAJKOVIC, K. M.; STAMENKOVIC, O. S.; VELJKOV, V. B.. Kinetic modeling and optimization of maceration and ultrasound-extraction of resinoid from

the aerial parts of white lady's bedstraw (*Galium mollugo* L.). **Ultrasonics Sonochemistry** 20, p. 525–534, 2013.

MINEIRO, S. A. L. Fibra Alimentar: composição, métodos e implicações alimentares. **Dissertação de Mestrado** em Tecnologia e Segurança Alimenta da Faculdade de ciência e tecnologia da Universidade Nova de Lisboa. 97f. Lisboa. Portugal. 2014.

MIRANDA, L. C. Obtenção e caracterização de hidrolisados de proteínas de farelo de soja. **Dissertação de Mestrados** (Engenharia Química), da Universidade Federal de São Carlos, 127f. São Carlos-SP, 2012.

MOLINA, J. P.; Fracionamento da proteína e estudo Termoanalítico das leguminosas: grão de bico (*cicer Arietinum*), variedade Cícero e tremoço branco (*lupinus Albus* 1.). **Dissertação de Mestrado** do curso de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Estadual Paulista, 68ff, ARARAQUARA – SP, 2010;

MONTEIRO, L. F.; SILVA, F. L. H. da; ALSINA, O. L. S. da. MENDONÇA, V. R. & SILVA, J. N. S. Estudos de localização de uma unidade produtora de Suplementos proteicos a partir de resíduos das indústrias de processamento de frutas. **XXII ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUCAO Desenvolvimento Sustentável e Responsabilidade Social: As Contribuições da Engenharia de Produção. Bento Gonçalves, RS, Brasil, 15 a 18 de outubro de 2012.**2012.

MONTEIRO, V. N. & SILVA, R. do. N. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. **Revista Processos Químicos**. Jan / Jun de 2009.

MONTGOMERY, D. C. & RUNGER, G. C. Estatística Aplicada e Probabilidade para Engenheiros. Quarta Edição, 2009.

MOREIRA, P. N. T. Planejamento e Otimização de um Método Quimiluminescente para Determinação de Vitamina B12 Usando um Sistema Fluxo-Batelada. **Tese de Doutorado** (de Química Analítica) do programa de pós-graduação em química da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-Paraíba, Brasil, 2009.

MOTA, C. J. A.; PESTANA, C. F. M. Co-produtos da Produção de Biodiesel. **Rev. Virtual Quim.** 2011, 3 (5), 416-425. Data de publicação na Web: 20 de outubro de 2011.

MOUBARIK, A.; EL-BELGHITI, K.; VOROBIEV, E. Kinetic model of solute aqueous extraction from Fennel (*Foeniculum vulgare*) treated by pulsed electric field, electrical discharges and ultrasonic irradiations. **Food and Bioproducts Processing** 89, p. 356–361, 2011.

MUGENDI, J. B. W., NJAGI, E. N. M., KURIA, E. N., MWASARU, M. A., MUREITHI, J. G.; APOSTOLIDES, Z. Nutritional quality and physicochemical properties of Mucuna bean (*Mucuna pruriens* L.) protein isolates. **International Food Research Journal** 17: 357-366, 2010.

MUNE MUNE, M. A.; MINKA, S.R.; MBOME, I.L.; Response surface methodology for optimisation of protein concentrate preparation from cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Food Chemistry** 110, pg. 735–741, 2008.

MUNHOZ, C.L. Elaboração de barras de cereal com bocaiuva. (**Tese de Doutorado**) apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Universidade Federal de Mato Grosso), 105p, Campo Grande- M.G, 2013.

NASCIMENTO, E. S. do. Obtenção do hidrolisado proteico de sementes de quiabo *Abelmoschus esculentus(L.)* moench e sua capacidade antioxidante.82f. 2015. **Dissertação de mestrado** (em Ciência e Tecnologia de Alimentos) da Universidade Federal de Paraíba. João Pessoa –PB, 2015.

NEIVA JUNIOR, A. P. Potencial de coprodutos do biodiesel para alimentação e ruminantes. **Tese de Doutorado** do programa de pós-graduação de Zootecnia (Nutrição Animal) da UFL.161p. Lavras, MG- 2009.

NELSON, D. L. & COX, M. M. LEHNINGER, Principles of Biochemistry,5ª Edição, 2008. Editado por W. H. Freeman and Company. New York, NY.2008

NEVES, V. A.; SILVA Jr, S. I.; SILVA, M. A. Isolamento da globulina majoritária, digestibilidade *in vivo* e *in vitro* das proteínas do tremoço-doce (*lupinus albus* L.), var. Multolupa. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, 26(4): 832-840, out.-dez. 2006.

NG, S.P.; TAN, C.P.; LAI, O. M.; LONG, K. & MIRHOSSEINI, H. Extraction and characterization of dietary fiber from coconut residue. **Journal of Food, Agriculture & Environment** Vol.8 (2): 172 – 177, 2010.

NNADOZIE, E. F.; KELECHI, A. J.; DEBORAH. O. Effects pH and NaCl on the Protein Solubility, Emulsifying and Foaming Properties of Germinated and Ungerminated Melon (*Colocynthis citrullus*) Seed Flour. **International Journal of Nutrition and Food Sciences**, 4(2): 173-177, 2015. doi: 10.11648/j.ijnfs.20150402.18.

NOBRE, D. A. C.; TROGELLO, E.; BORGHETTI, R. A.; DAVID, A.M.S. S. Macaúba: palmeira de extração sustentável para biocombustível. **Colloquium Agrariae**, v. 10, n.2, p.92-105. Jul.-Dez. 2014.

Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3ª ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. 533p. Volume 1, Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Quim. Nova**, Vol. 33, No. 7, p.1549-1558, 2010.

NOVOZYMES Disponível em < <http://www.novozymes.com.br>> Acesso em 14 de fev. 2015.

OLIVEIRA, A. M. GOMEZ, R.J.H.C. Optimization of protein extraction from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 4, p. 521-534, out./dez. 2005.

PARIMI, N. S.; SINGH, M.; KASTNER, J. R.; DAS, K. C.; FORSBERG, L. S.; & AZADI, P. Optimization of protein extraction from *Spirulina platensis* to generate a potential co-product and a biofuel feedstock with reduced nitrogen content. **Frontiers in Energy Research**. Volume 3, Article 30, June 2015.Doi: 10.3389/fenrg.2015.00030.

PARSONS, D. F.; BOSTRO, M.; LO NOSTRO, P. AND NINHAM, B. W. Hofmeister effects: interplay of hydration, nonelectrostatic potentials, and ion size. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13, 12352–12367, 2011.

PEREIRA, J. H. B. Valor nutritivo da Torta da Polpa da macaúba (*Acrocomia aculeata*) para suínos em crescimento Brasília. **Dissertação de Mestrado** (em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Brasília. 72 páginas. 2013.

PERICIN, D.; RADULOVIC, L.; TRIVIC, S.; DIMIC, E Evaluation of solubility of pumpkin seed globulins by response surface method. *Journal of Food Engineering* 84, p.591–594, 2008.

PIGHINELLI, A.L.M.T, Otimização de prensagem a frio de grãos de amendoim em prensas continua tipo expeller. *Ciência e tecnologia de alimentos*, Campinas, Suplemento n 28, p 66-71, dezembro de 2007.

PINELO, M.; SINEIRO, J.; NUNEZ, M. J.; Mass transfer during continuous solid–liquid extraction of antioxidants from grape byproducts. *Journal of Food Engineering* 77, pg. 57–63, 2006.

PNUD 2016. World Development Indicators.The Word Bank Group 2016. 1818 H Street NW, Washington DC 20433.

POOJARY, M. M. & PASSAMONTI, P. Extraction of lycopene from tomato processing waste: Kinetics and modelling. *Food Chemistry* 173, p. 943–950, 2015.

PORRAS-SAAVEDRA, J.; GUEMEZ-VERA, N.; MONTAÑEZ-SOTO, J. L.; FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ, M. C.; AND YAÑEZ-FERNÁNDEZ, J. Comparative study of functional properties of protein isolates obtained from three *Lupinus* species. *Adv. Biores.*, Vol4 (4), December: p. 106-116, 2013.

PRAUSNITZ, J. M.; LICHTENTHALER, R. N.; AZEVEDO, E. G. Molecular thermodynamics of fluid phase equilibria. 3rd Edition. 886f. PRETINCE HALL, PTR, New Jersey, 1999.

PRETTI, T. Tecnologia para produção de extrato aquoso de amendoim e elaboração de produto fermentado, 2010, f72, **Dissertação de Mestrado**, (em ciências farmacêuticas) da Faculdade de Ciências Farmacêutica da UNESP, Araraquara, SP, 2010.

PROLA, I. R. D. Efeito nutricional da fortificação proteico-energética da alimentação escolar de crianças. **Tese de doutorado** do Programa de Pós Graduação em Ciência e tecnologia de Alimentos da UFSM, 94ff. Santa Maria-RS, 2013.

QU, W.; PAN, Z. ; MA. H. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering* 99, p.16–23, 2010.

QUANHONG, L.; CAILI, F. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chemistry* 92, pg 701–706, 2005.

QUIST, E. E.; PHILLIPS, R. D. e SAALIA, F. K. The effect of enzyme systems and processing on the hydrolysis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) protein. **LWT - Food Science and Technology** 42, pp. 1717–1721, 2009.

RADHAKRISHNAN, R.; PAE, S-B.; KANG, S-M.; LEE, B-K.; LEE, I-J.; BAEK, I-Y. An Evaluation of Amino Acid, Fatty Acid and Isoflavone Composition in Korean Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Seeds to Improve the Nutritional Quality of Breeding Lines. **J Korean Soc Appl Biol Chem**, 57(3), p. 301–305, 2014.

RAKOTONDRAMASY-RABESIAK, L. et al. Solid–liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L.—Kinetic modelling of influential parameters. **Industrial crops and Products** 29, p. 516–523, 2009.

RAKOTONDRAMASY-RABESIAKA, L. et al. Solid–liquid extraction of protopine from *Fumaria officinalis* L.—Analysis determination, kinetic reaction and model building. **Separation and Purification Technology** 54, p. 253–261, 2007.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Produtos Proteicos de Soja. (Capítulo 8) *in* **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Oetterer, M; Regitano-d'Arce, M. A. B, Spoto, M. H. F.2006.

REIS, C.; NETTO, F. M. Influencia do método de extração de proteínas no rendimento, do perfil proteico e solubilidade dos concentrados proteicos de amaranto. **B. CEPPA**, Curitiba, v.24 n.2, p.289-302, Jul/Dez 2006.

REVELLO, C. Z. P. Avaliação do valor nutricional de resíduos do processamento da macaúba (*acrocomia aculeata*) e de seus produtos de Bioconversão. **Dissertação de Mestrado** (em Ciência e Tecnologia Ambiental) do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, da Universidade Federal da Grande Dourados. 81f.

REZIG, L.; CHIBANI, F.; CHOUAIBI, M.; DALGALARRONDO, M.; HESSINI, K.; GUÉGUEN, J.; & HAMDÍ, S. Pumpkin (*Cucurbita máxima*) Seed Proteins: Sequential Extraction Processing and Fraction Characterization. **J. Agric. Food Chem.** 61, 7715–7721, 2013. dx.doi.org/10.1021/jf402323u.

RIBEIRO, A. R. A terra da fome e das oportunidades. África: uma aposta de futuro na corrida pela demanda de alimentos. A China já largou na frente. **Revista Feed & Food**. Ano VIII, no 8, junho 2014.

RIBEIRO, V.A. Aproveitamento do resíduo do extrato de soja na elaboração de um produto tipo paçoca. **Dissertação de Mestrado** de Ciência dos Alimentos (Universidade Federal de Lavras), f 86, LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL 2006.

RODRIGUES, I. M.; COELHO, J. F. J.; CARVALHO, M. G. V. S. Isolation and valorization of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. **Journal of Food Engineering** 109, p.337–346, 2012.

ROSA, M. F.; SOUZA FILHO, M S. M.; FIGUEIREDO, M. C. B.; MORAIS, J. P. S.; SANTAELLA, S.T. e LEITÃO, R.C. Valorização de resíduos da agroindústria. **II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais** – II SIGERA 15 a 17 de março de 2011 - Foz do Iguaçu, PR.,2011.

ROSSET, M., ACQUARO, V.R., & BELÉIA, A.D.P. protein extraction from defatted soybean flour with Viscozyme L. pretreatment. **Journal of Food Processing and Preservation** 38, p. 784–790, 2014.

RUFINO, L. M. A.; BARRETO, S. M. P.; DUARTE, E. R.; GERASEEV, L. C.; SANTOS, A. C. R. & JARUCHE, Y. G. Efeitos da inclusão de torta de macaúba sobre a população de protozoários ruminais de caprinos. **R. Bras. Zootec.** v.40, n.4, p.899-903, 2011.

RUTZ, J. K.; VOSS, G. B.; MACHADO, M. R. G.; RODRIGUES, R. S. Elaboração de alimento em barra à base de torta residual da extração do óleo de Amendoim por prensagem. **B.CEPPA, Curitiba**, v. 29, n. 2, p. 173-180, jul. /dez. 2011.

SANTOS, G. P. dos. Metodologia de Superfície de Resposta Aplicada à Secagem de Frutos de Macaúba para Obtenção de Óleo de Polpa de Alta Qualidade. **Dissertação de Mestrado** (Biotecnologia) do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco. 83f. Campo Grande- Mato Grosso do Sul, 2014.

SANTOS, H. T. L. Avaliação da torta de macaúba como insumo para produção de bioetanol. **Dissertação de Mestrado** (Química Orgânica) da UFVJM. Ff. 87. Diamantina-MG, 2011.

SANTOS, T. C. SANTOS, T.C. DOS.; GOMES, D.P.P.; ABREU FILHO,G.; FRANCO, M. Enriquecimento proteico dos resíduos sólidos do processamento de frutas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, vol.6, N.11; 2010.

SARI, Y. W. Biomass and its potential for protein and amino acids: valorizing agricultural by-products. 152p. **PhD thesis**, Wageningen University, Wageningen, NL -2015.

SARKIS, J. R. Extração de compostos bioativos de tortas de nozes e sementes e aplicação de tecnologias elétricas no gergelim. **Tese de Doutorado** (em engenharia Química) da UFRS. 228f. Porto Alegre-RS, 2014.

SASAKI, M. Lipídeos, carboidratos e proteínas das sementes de leguminosas do cerrado, **Dissertação de mestrado** (em botânica) do Instituto de biociências, da USP, 83f USP, 2008;

SAWADA, M. M.; VENÂNCIO, L. L.; TODA, T. A.; RODRIGUES, C. E. C. Effects of different alcoholic extraction conditions on soybean oil yield, fatty acid composition and protein solubility of defatted meal. **Food Research International** 62, 662–670, 2014.

SAWADA, M.M. Estudo da viabilidade técnica de substituição de hexano por etanol no processo de extração de óleo de soja: Cinética de extração e índices de qualidade, 2012, **Dissertação de Mestrado**(em ciência e engenharia de alimentos) da Faculdade de Zootecnia e engenharia de alimentos da USP, Pirassununga, 2012.

SAXENA, D.K.; SHARMA, S. K.; SAMBI, S. S. Kinetics and thermodynamics of cottonseed oil extraction. **Grasas y Aceites**, 62 (2), p.198-205, Abril-Junio, 2011.

SAXENA, D.K.; SHARMA, S. K.; SAMBI, S. S. Kinetics and thermodynamics of gossypol extraction from defatted cottonseed meal by ethanol. **Polish Journal of Chemical Technology**, 14, 2, p.29 -34, 2012.

SAYYAR, S.; ABIDIN, Z. Z.; YUNUS, R. & MUHAMMAD, A. Extraction of Oil from Jatropha Seeds-Optimization and Kinetics. **American Journal of Applied Sciences** 6 (7): 1390-1395, 2009.

SCHMIDT, C. G. Hidrólise enzimática das proteínas de carne de frango. **Dissertação de mestrado** (Engenharia e Ciência de Alimentos) da Fundação da UFRS. 143f, Rio Grande, RS 2008.

SCHMIDT, C. G. & SALAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas alcalase e flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 5, 1144-1150, 2009.

SEIFERT, L. Processing Techniques for the Improvement of Peanut Meal. A **thesis of Degree Master of Science** Faculty of North Carolina State University.90, 2009.

SELLING, G. W.; HOJILLA-EVANGELISTA, M. P.; EVANGELISTA, R. L.; ISBELL, T.; PRICE, N.; KENNETH M. DOLL, K. M. Extraction of proteins from pennycress seeds and press cake. **Industrial Crops and Products** 41, p.113– 119, 2013.

SERINOLI, C. Planejamentos experimentais em modelos de regressão linear. **Dissertação de Mestrado** (em Estatística) do Instituto de Matemática e Estatística da USP. 104 f. São Paulo, 2009.

SGOBI, L. M.; CARDINES, P. H. F.; BAPTISTA, A. T. A.; GOMES, R. G.; VIEIRA, A. M. S. Avaliação das propriedades funcionais das sementes da *moringa oleifera*. Revista Tecnológica – Edição Especial 2014 Maringá, p. 237-246, 2015.

SHEN, L.; WANG, X.; WANG, Z.; WU, Y.; CHEN, J. Studies on tea protein extraction using alkaline and enzyme methods. **Food Chemistry** 107, p.929–938, 2008.

SIKORSKI, Z. E. Chemical and Functional Properties of Food Components, Third Edition, 546f, Edited by ZDZISLAW E. SIKORSKI, 2007

SILVA, A. M.; OLIVEIRA, R. L.; RIBEIRO, O.L.; BAGALDO, A.R.; BEZERRA, L.R.; CARVALHO, S.T.; ABREU, C.L. & LEÃO, A.G. Valor nutricional de resíduos da agroindústria para alimentação de ruminantes. **Comunicata Scientiae** 5(4): 370-379, 2014.

SILVA, A. S. Avaliação da secagem de bagaçu de cajá usando planejamento fatorial composto central. **Dissertação de Mestrado** de Engenharia Química do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química- UFRN. 73f. Natal-RN, 2008.

SILVA, B. A.; TEPHAN, M. P.; KOBLITZ, M. G. B.; ASCHERI, J. L. R. Influência da concentração de NaCl e pH na extração de ricina em torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e sua caracterização por eletroforese. **Ciência Rural**, Santa Maria Online, 2012;

SILVA, J. F. Purificação e caracterização de uma protease Alcalina do resíduo de processamento da Carapeba prateada (*diapterus rhombeus*). **Dissertação de Mestrado** (em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) da Universidade Federal Rural de Pernambuco. ff.72, Recife-PE, Agosto 2009.

SILVA, M. S.; NAVES, M. M. V.; OLIVEIRA, R. B. & LEITE, O. S. M. Composição química e valor proteico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(3): 571-576, jul.-set. 2006.

SIMMONS, J. O custo dos alimentos e as escolhas dos consumidores: Por que o agronegócio precisa de tecnologia para atender à demanda crescente por alimentos saudáveis, nutritivos e com custos razoáveis. **Revista Nutrition for tomorrow** (N.T). N. 2(1) Janeiro de 2010.

SO, G.C.& MACDONALD, D.G. Kinetics of oil extraction from Canola (Rapeseed). **Can. J. Chem. Eng.** 64, 80–86. 1986.

SOBREIRA, H. F. Resíduos de coco de macaúba em substituição parcial ao milho e farelo de soja em rações para vacas mestiças lactantes. **Dissertação de mestrado** (de Zootecnia) da UFV. f 38, Viçosa-MG, 2011.

SONG, Y.; DU, B.; ZHOU, T.; HAN, B.; YU, F.; YANG, R.; HU, X.; NI, Y.; LI, Q. Optimization of extraction process by response surface methodology and preliminary structural analysis of polysaccharides from defatted peanut (*Arachis hypogaea*) cakes. **Carbohydrate Research** 346, pg. 305–310, 2011.

STENZEL, M.; GIRATA, A. K.; PEREIRA, N. C.; ZANIN, G. M.; LIMA, O. C. M. Influência do tamanho das partículas na solubilização enzimática da proteína do farelo de soja. **Acta Scientiarum. Technology**. Maringa, v. 31, n. 2, p. 195-200, 2009.

STRÖHER, R.; STENZEL, M.; PEREIRA, N. C.; ZANIN, G. M. Enzymatic extraction of protein from toasted and not toasted soybean meal. **Procedia Food Science** 1, p.463 – 469, 2011.

SU, C-H.; LIU, C-S.; YANG, P-C.; SYU, K-S.; CHIUH, C-C. Solid-liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: Kinetic modeling of influential factors. **Separation and Purification Technology** 123, pg. 64–68, 2014.

SU, G.; REN, J.; YANG, B.; CUI, C.; ZHAO, M. Comparison of hydrolysis characteristics on defatted peanut meal proteins between a protease extract from *Aspergillus oryzae* and commercial proteases. **Food Chemistry** 126, p.1306–1311, 2011.

SUBROTO, E.; MANURUNG, R.; HEERES, H. J.; BROEKHUIS, A. A. Optimization of mechanical oil extraction from *Jatropha curcas* L. kernel using response surface method. **Industrial Crops and Products** 63, p.294–302, 2015.

SULAIMAN, S.; AZIZ, A. R. A.; AROUA, M. K. Optimization and modeling of extraction of solid coconut waste oil. **Journal of Food Engineering** 114, p.228–234, 2013.

SULIMAN, M. A.; EL TINAY, A. H.; ELKHALIFA, A. E. O.; BABIKER, E.; ELKHAIL, E. A. Solubility as influenced by pH and NaCl Concentration and functional properties of Lentil proteins isolate. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5 (6), p. 589-593, 2006.

SUN, X-H.; ZHU, K.-X.; ZHOU, H-M. Optimization of a novel backward extraction of defatted wheat germ protein from reverse micelles. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10, p.328–333, 2009.

SUN, X-H.; ZHU, K.-X.; ZHOU, H-M. Protein extraction from defatted wheat germ by reverse micelles: Optimization of the forward extraction. *Journal of Cereal Science* 48, p.829–835, 2008.

SUSSMANN, D.; HALTER, T.; PICKARDT, C.; SCHWEIGGERT-WEISZ, U & EISNER, P. An optimization approach for the production of Fatlike protein isolates from different leguminous Seeds using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering* 36, p. 715–730, 2013.

SVAROVSKY, L.. Solid–Liquid Separation. Fourth Edition. 1992.

TABTABAEI, S. & DIOSADY, L. L. Aqueous and enzymatic extraction processes for the production of food-grade proteins and industrial oil from dehulled yellow mustard flour. *Food Research International*. 52 547–556, 2013.

TACO, Tabela Brasileira de Composição de alimentos, 4ª Edição revisada e ampliada, UNICAMP, Campinas-SP, 2011.

TAN, E.-S.; NGOH, Y-Y.; GAN, C-Y. A comparative study of physicochemical characteristics and functionalities of pinto bean protein isolate (PBPI) against the soybean protein isolate (SPI) after the extraction optimisation. *Food Chemistry* 152, p. 447–455, 2014.

TAN, M. C., LIEW, S. L.; MASKAT, M. Y., AIDA, W. M., OSMAN, H. Optimization of vanillin production using isoeugenol as substrate by *Aspergillus Niger* I-1472. *International Food Research Journal* 22(4), p. 1651-1656, 2015.

TAN, S. H.; MAILER, R. J.; BLANCHARD, C. L. & AGBOOLA, S. O. Canola Proteins for Human Consumption: Extraction, Profile, and Functional Properties. *Journal of Food Science* Vol. 76, Nr. 1, 2011.

TANG, L.; SUN, J.; ZHANG, H.C.; ZHANG, C. S.; YU, L.; NA, BI, J.; ZHU, F.; LIU, S.F.; YANG, Q.L. Evaluation of Physicochemical and Antioxidant Properties of Peanut Protein Hidrolysate. *PLOS.ONE*, v.7, May 2012.

TAO, Y.;ZHANG,Z.;SUN, D-W. Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature. *Ultrasonics Sonochemistry* .21, 1461–1469. 2014.

TEIXEIRA, E. M. B.; CARVALHO, M. R. B.; NEVES, V. A.; SILVA, M. A.; ARANTES-PEREIRA, L. Chemical characteristics and fractionation of proteins from Moringa oleifera Lam. leaves. *Food Chemistry* 147, p.51–54, 2014.

TENG, H. e CHOI, Y. H. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive alkaloid compounds from rhizoma coptidis (*Coptis chinensis* Franch.) using response surface methodology. **Food Chemistry** 142, p.299–305, 2014.

TEXEIRA, U. H. G.; SIMIONI, T. A.; PINA, D. S.; GOMES, F. J.; PAULA, D. C. de .; BOTINI, L. A. Potencial de utilização de co-produtos agroindustriais para suplementos. **Revista eletrônica nutritime**. Volume 11 - Número 02 – p. 3363–3386 – Março/Abril 2014.

TIAN, R.; YANG, G.; TANG, Y.; LIU, X.; LI, R.; ZHU, H.; LI, H. Origin of Hofmeister effects for complex systems. **PLoS ONE** 10(7), 2015: e0128602. doi:10.1371/journal.pone.0128602

TIMM, E. Análise da oferta e demanda, potenciais de biodiesel a partir de canola, girassol, mamona e Soja no RS.2009.103f. **Dissertação de mestrado** (em Economia) da Universidade do Vale dos Sinos (UNISINOS) São Leopoldo-RS, 2009.

TOUNKARA, F.; AMZA, T.; LAGNIKA, C.; LE, G-W.; SHI, Y-H. Extraction, characterization, nutritional and functional properties of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn) seed proteins. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 160 35 (2), p. 159-166, 2013.

TREYBAL, R.E. Operações de transferência de massa. Segunda Edição. 862f. McGRAW-HILL. 1991.

TZIMA, K.; KALLITHRAKA, S.; KOTSERIDIS, Y.; MAKRIS, D. P. Kinetic modelling for flavanol extraction from red grape (*Vitis vinifera* L.) pomace using aqueous organic acid solutions. **International Food Research Journal** 21(5): 1919-1924, 2014.

URSU, A-V.; MARCATI, A.; SAYD, T.; SANTE-LHOUTELLIER, V.; DJELVEH, G. & MICHAUD, P. Extraction, fractionation and functional properties of proteins from the microalgae *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology** 157, p. 134–139, 2014.

UZOH, C. F.; ONUKWULI, O. D.; NWABANNE, J. T. Characterization, kinetics and statistical screening analysis of gmelina seed oil extraction process. **Mater Renew Sustain Energy**. 3:38, 2014. DOI 10.1007/s40243-014-0038-1.

VEREDIANO, F. C. Aproveitamento da torta residual da extração do óleo da Polpa de Macaúba para fins alimentícios. 2012.114f. **Dissertação de Mestrado** do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas. Belo Horizonte, 2012.

VERONEZI, C. M.; JORGE, N. Aproveitamento de sementes de abóbora (*cucurbita* sp) como fonte alimentar. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n.1, p.113-124, 2012.

VIEIRA, C. R.; LOPES Jr, C. O.; RAMOS, C. S.; CAPOBIANGO, M.; SILVESTRE, M. P. C. Extração enzimática das proteínas da farinha de arroz. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(3): 599-606, jul.-set. 2008.

VON DER HAAR, D.; MÜLLER, K.; BADER-MITTERMAIER, S. & EISNER, P. Rapeseed proteins – Production methods and possible application ranges. **OCL**, 21(1) D104, 2014. DOI: 10.1051/oc/2013038.

WANG, M.; JIANG, L.; LI, Y.; LIU, Q.; WANG, S.; SUI, X. Optimization of Extraction Process of Protein Isolate from Mung Bean. *Procedia Engineering* 15, p. 5250 – 5258, 2011;

WANG, S.; JIANG, L.; LI, Y.; LI, D.; SUI, X. Optimization on aqueous enzymatic extraction conditions of pine seed protein by response surface method. / *Procedia Engineering* 15, p.4956– 4966, 2011.

WANG, Y.; WANG, Z.; CHENG, S.; HAN, F.; Aqueous Enzymatic Extraction of Oil and Protein Hydrolysates from Peanut. *Food Sci. Technol. Res.*, 14 (6), p.533 – 540, 2008.

WANI, A. A.; KAUR, D.; AHMED, I.; SOGI, D.S. Extraction optimization of watermelon seed protein using response surface methodology. *Food Science and Technology (LWT)* 41, p. 1514–1520, 2008.

WANI, A. A.; SOGI, D.S.; GROVER, L.; SAXENA, D.C. Effect of Temperature, Alkali Concentration, Mixing Time and Meal/Solvent Ratio on the Extraction of Watermelon Seed Proteins a Response Surface Approach. *Biosystems Engineering* 94 (1), 67–73, 2006.

WATANABE, E.O.; Equilíbrio de fases na precipitação de lisozima e albumina de soro bovino com o uso de sais. **Tese de doutorado** (de Engenharia Química da UNICAMP) 215ff, Campinas-SP, 2007.

WEI, M-X & YANG, Y-C. Extraction characteristics and kinetic studies of oleanolic and ursolic acids from *Hedyotis diffusa* under ultrasound-assisted extraction conditions. *Separation and Purification Technology* 130, p. 182–192, 2014.

WEISSMAN, S. A. and ANDERSON, N. G. Design of Experiments (DoE) and Process Optimization. A Review of Recent Publications. *Organic Process Research & Development*, ACS, Publication, 2014.

WHITE, B. L.; SHI, X.; BURK, C. M.; KULIS, M.; BURKS, A. W.; SANDERS, T. H.; AND JACK P. DAVIS, J. P. Strategies to Mitigate Peanut Allergy: Production, Processing, Utilization, and Immunotherapy Considerations. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 5, p. 155–76, 2014.

WHITEHURST, R. J. E OORT, M. V. Enzymes in food technology. 388 pg. Editor Blackwell Publishing,. New Delhi- India, 2010.

WU, G.; FANZO, J.; MILLER, D.D.; PINGALI, P.; POST, M.; STEINER, J. L. & THALACKER-MERCER, A. E. Production and supply of high-quality food protein for human consumption: sustainability, challenges, and innovations. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1321, p. 1–19, 2014.

WU, H.; WANG, Q.; MA, T.; REN, J. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanuts protein. *Food Research International*, Beijing, China, n.42 p. 343-348, 2009.

WWF 2014. The growth of Soy: Impacts and Solutions. (O crescimento da soja: impactos e soluções) *WWF-International (secretariado internacional da Rede WWF)*, em Gland, na Suíça. 2014.

XI, J.; YAN, L.; HE, L. Pressure-dependent kinetic modeling of solid–liquid extraction of the major green tea constituents. **Separation and Purification Technology** 133, p.155–159, 2014.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I.; Peanuts protein concentrate: Production and Functional Properties as affected by processing. **Food Chemistry**. USA, n. 103, p 121-129, 2007.

YU, L.; YANG, W.; SUN, J.; ZHANG, C.; BI, J.; YANG, Q. Preparation, characterization and physicochemical properties of the phosphate modified peanut protein obtained from Arachin Conarachin L. **Food Chemistry** 170, p. 169–179, 2015.

YUST, M. M.; PEDROCHE, J.; MEGÍAS, C.; GIRÓN-CALLE, J.; ALAIZ, M.; MILLÁN, F.; AND VIOQUE, J. Improvement of protein extraction from sunflower meal by hydrolysis with alcalase. **Grasas y Aceites**. Vol. 54. Fasc. 4: 419-423, 2003.

ZAHIR, E.; SALEEM, T.; SIDDIQUI, H.; NAZ, S.; & SHAHID, S. M. Kinetic and thermodynamic studies of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *lavendula steochs*. **Journal of Basic & Applied Sciences**, 11, 217-222, 2015.

ZENG, H-Y.; CAI, L-H.; CAI, X-L.; WANG, Y-J.; LI, Y-Q. Amino acid profiles and quality from lotus seed proteins. **J Sci Food Agric**, 93: p.1070–1075, 2013.

ZHANG, J. Protein-Protein Interactions in Salt Solutions, Protein-Protein Interactions -Computational and Experimental Tools, Dr. Weibo Cai (Ed.), ISBN: 978-953-51-0397-4, 2012. *InTech*, Available from: <http://www.intechopen.com/books>.

ZHANG, S. B.; LU, Q. Y.; YANG, H.; LI, Y.; WANG, S.; Aqueous Enzymatic Extraction of Oil and Protein Hydrolysates from Roasted Peanut Seeds. **J Am Oil Chem Soc** 88:727–732, 2011. DOI 10.1007/s11746-010-1711-x.

ZHANG, Y. & CREMER, P. S. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. **Current Opinion in Chemical Biology**, 10:658–663, 2006.

ZHANGCUN, W.; LEI, W.; JILIN, D.; CHANGWEN, L.; PEIQI, Z. Effects of enzymatic pre-treatment on extraction of protein from defatted peanut flour. Transactions of the CSAE. 287, Vol.25, no. 3. Mar. 2009.

ZHAO, G.; LIU, Y.; R ZHANG, S. B.; LIU, X. J.; LU, Q. Y.; WANG, Z. W.; ZHAO, X. Enzymatic Demulsification of the Oil-Rich Emulsion Obtained by Aqueous Extraction of Peanut Seeds. **J Am Oil Chem Soc**. 90:1261–1270. 2010. DOI 10.1007/s11746-013-2265-5.

ZHAO, G.; LIU, Y.; REN, J.; ZHAO, M. & YANG, B. Effect of protease pretreatment on the functional properties of protein concentrate from defatted peanut flour. **Journal of Food Process Engineering** 36, 9–17, 2013.

ZHONG, C.; ZHOU, Z.; ZHANG, Y-M.; JIA, S-R.; SUN, Z.; DALE, B. E Integrating kinetics with thermodynamics to study the alkaline extraction of protein from caragana korshinskii kom. **Biotechnology and Bioengineering**, Vol. 111, No. 9, September 2014.

ZIDORA, C. B. M. Estratégias de gerenciamento do risco de preços na comercialização do milho em grão nas zonas rurais de Moçambique. 2015.102f. **Dissertação de Mestrado** (Em Agronegócio) da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás. Goiânia- Goiás, 2015.

ANEXOS

ANEXO A - Rendimento da solubilidade da proteína para diferentes farelos e diferentes contrações do solvente

Amendoim				
pH	Concentração (mol.dm³)			
	0	0,1	0,5	1,0
Rendimento da solubilidade				
1	56,58±0,55	34,43±0,17	19,82±0,43	13,81±0,50
2	66,81±2,94	50,60±0,91	25,02±0,39	14,84±0,53
3	49,66±0,99	19,59±1,01	15,49±0,13	13,76±0,37
4	5,97±0,35	5,43±1,34	10,68±0,32	11,38±0,59
5	5,05±0,06	8,10±0,42	23,84±0,51	28,69±0,43
6	12,70±0,29	13,9±0,09	27,08±0,45	35,19±0,39
7	63,12±1,17	18,46±0,21	30,01±0,89	47,94±0,57
8	78,86±0,09	26,05±0,22	32,14±0,08	58,17±0,59
9	86,13±3,59	39,89±0,52	59,21±0,18	61,37±1,39
10	83,11±0,36	86,59±0,83	52,79±0,69	78,29±0,81
11	88,15±0,05	80,16±0,57	65,56±0,66	79,15±0,25
12	88,43±1,07	80,20±0,86	74,16±0,85	80,77±1,03

Amêndoa				
pH	Concentração (mol.dm⁻³)			
	0	0,1	0,5	1,0
Rendimento da solubilidade				
1	52,59±0,18	44,98±1,25	19,82±0,19	25,67±0,58
2	33,30±0,84	20,38±0,06	19,29±0,31	18,72±0,16
3	10,77±0,46	9,98±0,33	17,75±0,16	17,97±0,65
4	5,32±0,15	8,38±0,16	15,67±0,06	22,48±0,36
5	8,33±0,18	13,78±0,15	28,37±0,40	33,71±0,34
6	12,31±0,37	24,22±0,72	34,75±0,16	58,99±0,65
7	23,44±0,42	30,49±0,12	36,15±0,16	58,06±0,19
8	34,07±0,42	33,11±0,72	45,56±0,27	57,67±0,46
9	39,38±0,86	49,00±1,13	51,85±0,29	60,46±0,36
10	57,36±0,09	54,09±0,87	60,68±0,06	57,63±0,17
11	68,27±0,18	67,63±1,31	62,53±0,11	57,63±0,35
12	73,19±0,22	74,21±0,75	62,79±0,43	60,73±0,29

Polpa				
Concentração do Sal de NaCl (mol.dm⁻³)				
pH	0	0,1	0,5	1,0
Rendimento da solubilidade				
1	73,37±3,73	75,92±3,57	78,05±1,98	69,46±1,17
2	67,23±3,54	66,46±4,42	64,66±1,10	57,45±0,57
3	57,70±4,06	63,87±2,98	58,28±0,45	55,01±0,37
4	50,92±0,39	52,72±3,45	53,29±0,21	54,63±0,26
5	55,71±3,92	54,08±3,75	40,47±0,84	53,26±0,87
6	63,34±3,58	63,16±3,95	50,89±0,19	50,87±1,90
7	68,16±3,96	65,97±3,27	56,17±0,09	58,44±0,97
8	71,08±2,85	67,29±2,88	57,29±0,51	59,05±0,58
9	74,25±1,74	68,93±1,30	61,30±1,12	61,79±0,63
10	77,12±0,39	70,58±0,19	64,47±0,35	63,22±1,27
11	78,42±3,05	61,27±0,34	65,51±0,86	54,76±1,36
12	79,93±1,60	72,56±2,52	70,26±0,28	65,87±1,02

ANEXO B-Tabela teste F (5% de significância)

v1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	15	20	24	25	30
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	242.98	243.90	245.95	248.02	249.05	249.26	250.10
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.46
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.76	8.74	8.70	8.66	8.64	8.63	8.62
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.94	5.91	5.86	5.80	5.77	5.77	5.75
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.70	4.68	4.62	4.56	4.53	4.52	4.50
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.94	3.87	3.84	3.83	3.81
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.60	3.57	3.51	3.44	3.41	3.40	3.38
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.22	3.15	3.12	3.11	3.08
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.10	3.07	3.01	2.94	2.90	2.89	2.86
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94	2.91	2.85	2.77	2.74	2.73	2.70
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.82	2.79	2.72	2.65	2.61	2.60	2.57
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.72	2.69	2.62	2.54	2.51	2.50	2.47
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.63	2.60	2.53	2.46	2.42	2.41	2.38
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.57	2.53	2.46	2.39	2.35	2.34	2.31
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.51	2.48	2.40	2.33	2.29	2.28	2.25
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.46	2.42	2.35	2.28	2.24	2.23	2.19
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.38	2.31	2.23	2.19	2.18	2.15
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.27	2.19	2.15	2.14	2.11
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.34	2.31	2.23	2.16	2.11	2.11	2.07
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.31	2.28	2.20	2.12	2.08	2.07	2.04
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.25	2.18	2.10	2.05	2.05	2.01
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.26	2.23	2.15	2.07	2.03	2.02	1.98
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.24	2.20	2.13	2.05	2.01	2.00	1.96
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.22	2.18	2.11	2.03	1.98	1.97	1.94
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.20	2.16	2.09	2.01	1.96	1.96	1.92
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.07	1.99	1.95	1.94	1.90
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.17	2.13	2.06	1.97	1.93	1.92	1.88
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.15	2.12	2.04	1.96	1.91	1.91	1.87
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.14	2.10	2.03	1.94	1.90	1.89	1.85
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.13	2.09	2.01	1.93	1.89	1.88	1.84
35	4.12	3.27	2.87	2.64	2.49	2.37	2.29	2.22	2.16	2.11	2.07	2.04	1.96	1.88	1.83	1.82	1.79
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.04	2.00	1.92	1.84	1.79	1.78	1.74

ANEXO C1 - Dados cinéticos experimentais de quantidade de proteína extraída ou rendimento do processo R(t) em função das concentrações de NaCl em solução

Amendoim				
Tempo (min)	Concentração do Sal de NaCl (mol.dm ⁻³)			
	0	0,02	0,04	0,06
Rendimentos de extração				
0,5	61,98±1,07	81,05±1,27	77,22±0,34	74,77±0,47
1	71,86±0,42	82,95±0,64	83,24±1,27	76,33±0,34
2	79,45±0,68	84,33±0,17	86,91±0,50	78,20±1,45
3	84,38±0,93	89,33±1,40	90,14±1,01	84,40±0,06
5	92,20±0,14	91,61±0,17	91,98±0,67	95,07±1,24
10	91,27±0,75	91,93±0,33	94,28±0,17	97,26±0,13
20	91,63±1,01	92,25±0,04	96,41±0,83	97,6±50,66
40	91,67±0,64	93,05±0,95	95,61±0,63	97,94±0,31
70	91,67±0,91	93,69±0,19	96,22±0,15	98,09±0,41
100	91,83±0,27	93,11±0,56	96,61±0,15	98,48±0,19

Amêndoa				
Tempo (min)	Concentração do Sal de NaCl (mol.dm ⁻³)			
	0	0,02	0,04	0,06
Rendimento de extração				
0,5	51,21±0,91	56,81±1,01	70,40±0,89	62,00±0,57
1	53,35±0,47	65,02±0,89	73,48±0,39	64,24±1,58
2	60,76±0,15	66,61±0,97	75,92±0,10	70,68±0,05
3	63,38±1,52	68,79±0,56	76,20±0,03	85,19±1,48
5	65,65±0,49	70,00±0,72	76,38±0,03	87,47±0,19
10	65,06±0,37	72,75±1,13	76,66±0,33	87,73±0,48
20	67,03±1,59	73,95±1,25	77,42±0,36	88,13±0,55
40	67,84±0,87	74,46±0,68	78,23±0,03	87,47±0,43
70	67,87±0,55	74,85±1,22	78,89±0,20	88,30±0,52
100	71,99±0,73	74,92±0,94	80,18±0,24	88,39±0,28

Polpa				
Tempo (min)	Concentração do Sal de NaCl (mol.dm ⁻³)			
	0	0,02	0,04	0,06
Rendimento de extração				
0,5	53,19±1,09	64,08±0,43	61,58±0,88	77,36±1,05
1	59,98±0,64	70,36±1,21	69,38±0,64	83,90±0,35
2	68,71±0,92	80,96±0,14	86,75±1,04	88,12±0,52
3	72,63±0,53	85,50±1,63	91,18±0,53	90,25±1,20
5	84,02±0,16	88,31±1,54	90,46±0,90	93,44±1,44
10	84,95±0,77	91,18±0,27	92,51±0,43	96,31±1,74
20	87,10±0,54	91,96±0,54	95,17±0,35	97,81±0,78
40	87,65±1,03	92,59±0,29	95,78±0,03	97,91±0,35
70	88,03±1,41	92,64±0,40	95,27±1,24	97,48±0,25
100	88,6±0,35	93,7±1,07	96,25±0,95	98,38±0,64

ANEXO C2 - Dados cinéticos experimentais da quantidade de proteína extraída ou rendimento do processo R(t) (%) de w/w em função da temperatura de extração

Tempo (min)	R(t) (%)								
	Amendoim			Amêndoa			Polpa		
	Temperatura (°C)								
	25	35	45	25	35	45	25C	35	45
	rendimento			rendimento			Rendimento		
0,5	61,98±1,07	74,19±1,26	79,84±1,04	51,21±0,91	56,69±1,45	66,01±1,46	53,19±1,09	66,72±1,49	63,74±0,79
1	71,86±0,42	75,65±1,77	86,84±0,83	53,35±0,47	57,38±0,49	73,37±1,25	59,98±0,64	71,01±0,18	64,92±0,40
2	79,45±0,68	81,82±0,43	89,64±1,04	60,76±0,15	64,50±1,89	76,64±1,50	68,71±0,92	76,37±0,30	76,55±0,27
3	84,38±0,93	85,88±0,89	92,48±1,74	63,38±1,52	69,95±0,97	83,95±0,27	72,63±0,53	79,39±1,07	84,08±1,46
5	92,20±0,14	91,58±1,07	95,42±1,45	65,65±0,49	73,47±0,46	84,20±1,19	84,02±0,16	84,79±0,27	85,06±0,52
10	91,27±0,75	93,02±0,62	96,60±0,86	65,06±0,37	72,92±1,01	84,25±1,20	84,95±0,77	93,77±0,63	93,50±0,40
20	91,63±1,01	92,50±1,41	96,57±0,56	67,03±1,59	75,02±0,81	85,63±0,36	87,10±0,54	94,87±1,08	97,23±1,32
40	91,67±0,64	93,44±1,08	96,63±1,05	67,84±0,87	76,83±1,29	86,82±0,43	87,65±1,03	94,49±0,28	97,43±0,70
70	91,67±0,91	93,20±1,34	96,74±1,15	67,87±0,55	78,20±1,68	87,40±0,11	88,03±1,41	95,98±0,01	97,46±1,33
100	91,83±0,27	94,57±0,93	97,77±0,38	71,99±0,73	80,06±0,34	88,04±1,27	88,60±0,35	95,00±0,87	99,20±0,07

ANEXO D1**Rotina do SCILAB (Cálculo dos parâmetros do modelo de dois estágios)**

```
function y=Cchap(t, params)
```

```
    C1=params.C1;
```

```
    k1=params.k1;
```

```
    C2=params.C2;
```

```
    k2=params.k2;
```

```
    y=C1.*(1-exp(-k1*t))+C2.*(1-exp(-k2*t));
```

```
endfunction
```

```
t=[0.5;1;2;3;5;10;20;40;70;100];
```

```
cexp=[61.97;71.86;79.44;84.38;92.20;91.26;91.63;91.66;91.67;91.83];
```

```
function e=objetivo(x)
```

```
    t=[0.5;1;2;3;5;10;20;40;70;100];
```

```
    cexp=[61.97;71.86;79.44;84.38;92.20;91.26;91.63;91.66;91.67;91.83];
```

```
    params.C1=x(1);
```

```
    params.k1=x(2);
```

```
    params.C2=x(3);
```

```
    params.k2=x(4);
```

```
    vetor_Cchap=Cchap(t,params);
```

```
    dif=cexp-vetor_Cchap;
```

```
    e=dif'*dif;
```

```
endfunction
```

```
opt = optimset ( "Display" , "iter" );
```

```
opt.MaxIter=1000;
```

```
opt.MaxFunEvals=1000;
```

```
[x,fval,exitflag] =fminsearch(objetivo,[10,1,1,0.01],opt);
```

```
params.C1=x(1);
```

```
params.k1=x(2);
```

```
params.C2=x(3);
```

```
params.k2=x(4);
```

```
novoC=Cchap(t,params);
```

```
disp(novoC);
```

```
figure(1);
```

```
plot(t,novoC);
```

```
plot(t,cexp,'ro');
```

```
xlabel("Tempo (min)")
```

```
ylabel("Concentração (mg/g)")
```

```
figure(2)
```

```
plot(novoC,novoC,'k')
```

```
plot(cexp,novoC,'o')  
xlabel("Valores observados (mg/g)")  
ylabel("Valores preditos (mg/g)")  
  
SST=(cexp-mean(cexp))*(cexp-mean(cexp));  
SSR=fval;  
  
R2=1-SSR/SST;  
  
disp("R2 = ");  
disp(R2);
```

ANEXO D2: Procedimentos para ajuste do modelo de Osbourn e Katz

$$Y=(R_{as}-R)/R_{as}$$

Onde Y é o valor usado para efeitos de simplificação do modelo de acordo com equação 4.18 a para compilação da rotina descrita no anexo D3.

Valores de Ras correspondentes aos rendimentos de extração no equilíbrio

	Teor de NaCl C (mol.dm ⁻³)				Temperatura (°C)		
	0,00	0,02	0,04	0,06	25	35	45
	$R_{as}(\%)$ *						
Amendoim	92,00	94,00	97,00	99,00	92,00	95,00	98,00
Amêndoa	72,00	75,00	80,50	89,00	72,00	80,10	88,10
Polpa	89,00	94,00	97,00	99,00	89,00	95,00	99,50

*Os valores para Ras, rendimento máximo de extração no equilíbrio, foram estimados considerando o tempo máximo de extração igual a 200 minutos, onde se verificou pelo dados experimentais constância no valor do rendimento.

Valores calculados para Y para a extração de proteínas a partir de farelo de Amendoim

T (min)	$Y=(R_{as}-R)/R_{as}$						
	Teor de NaCl Concentração (mol.dm ⁻³)				Temperatura (°C)		
	0	0,02	0,04	0,06	25	35	45
0,5	0,3263	0,1378	0,2039	0,2447	0,3263	0,2191	0,1853
1	0,2189	0,1176	0,1418	0,2289	0,2189	0,2036	0,1139
2	0,1365	0,1029	0,1040	0,2101	0,1365	0,1387	0,0853
3	0,0828	0,0497	0,0708	0,1475	0,0828	0,0960	0,0563
5	0,0195	0,0255	0,0517	0,0397	0,0195	0,0360	0,0264
10	0,0079	0,0220	0,0280	0,0175	0,0079	0,0208	0,0143
20	0,0040	0,0186	0,0061	0,0136	0,0040	0,0263	0,0146
40	0,0036	0,0101	0,0143	0,0107	0,0036	0,0165	0,0140
70	0,0036	0,0033	0,0081	0,0092	0,0036	0,0190	0,0129
100	0,0018	0,0094	0,0040	0,0053	0,0018	0,0045	0,0024

Valores calculados para Y para a extração de proteínas a partir de farelo de Amêndoa de macaúba

Y=(Ras-R)/Ras							
T (min)	Teor de NaCl				Temperatura (oC)		
	Concentração (mol.dm ⁻³)				25	35	45
	0	0,02	0,04	0,06			
0,5	0,2888	0,2426	0,1270	0,3033	0,2888	0,2923	0,2507
1	0,2590	0,1330	0,0791	0,2782	0,2590	0,2837	0,1672
2	0,1562	0,1118	0,0697	0,2058	0,1562	0,1947	0,1301
3	0,1197	0,0828	0,0652	0,0428	0,1197	0,1267	0,0471
5	0,0882	0,0667	0,0571	0,0171	0,0882	0,0827	0,0443
10	0,0964	0,0300	0,0411	0,0143	0,0964	0,0897	0,0437
20	0,0690	0,0140	0,0282	0,0097	0,0690	0,0634	0,0281
40	0,0578	0,0072	0,0102	0,0071	0,0578	0,0408	0,0146
70	0,0574	0,0020	0,0067	0,0041	0,0574	0,0237	0,0079
100	0,0001	0,0010	0,0019	0,0018	0,0001	0,0005	0,0007

Valores calculados para Y para a extração de proteínas a partir de farelo de Polpa de macaúba

Y=(Ras-R)/Ras							
T (min)	Teor de NaCl				Temperatura (oC)		
	Concentração (mol.dm ³)				25	35	45
	0	0,02	0,04	0,06			
0,5	0,4024	0,3183	0,3652	0,2186	0,4024	0,3013	0,3593
1	0,3261	0,2515	0,2848	0,1525	0,3261	0,2564	0,3475
2	0,2280	0,1386	0,1056	0,1098	0,2280	0,2003	0,2306
3	0,1839	0,0904	0,0600	0,0884	0,1839	0,1687	0,1549
5	0,0559	0,0605	0,0674	0,0562	0,0559	0,1121	0,1451
10	0,0454	0,0300	0,0463	0,0272	0,0454	0,0181	0,0603
20	0,0213	0,0217	0,0189	0,0120	0,0213	0,0065	0,0228
40	0,0152	0,0150	0,0126	0,0109	0,0152	0,0106	0,0208
70	0,0109	0,0145	0,0179	0,0153	0,0109	0,0054	0,0205
100	0,0045	0,0032	0,0077	0,0063	0,0045	0,0053	0,0029

ANEXO D3 Rotina do SCILAB (Cálculo da Difusividade D1 e D2 – Modelo Osbourn e Katz)

```

function Y=Cchap(t, params)
    f1=params.f1;
    k1=params.k1;
    f2=params.f2;
    k2=params.k2;

    Y=0.608*((f1*exp(-k1*t))+(f2*exp(-k2*t)));
end function
t=[0.5;1;2;3;5;10;20;40;70;100];
cexp=[0.3263;0.2189;0.1365;0.0828;0.0195;0.0079;0.0040;0.0036;0.0036;0.0018];
function e=objetivo(x)
    params.f1=x(1);
    params.k1=x(2);
    params.f2=x(3);
    params.k2=x(4);
    vetor_Cchap=Cchap(t,params);
    dif=cexp-vetor_Cchap;
    e=dif*dif;
endfunction
opt = optimset ( "Display" , "iter" );
opt.MaxIter=1000;
opt.MaxFunEvals=1000;

[x,fval,exitflag] =fminsearch(objetivo,[1,1,0.1,0.001],opt);
params.C1=x(1);
params.k1=x(2);
params.C2=x(3);
params.k2=x(4);
novoC=Cchap(t,params);

disp(novoC);
figure(1);
plot(t,novoC);
plot(t,cexp,'ro');
xlabel("Tempo (min)")
ylabel("Concentração (mg/g)")
figure(2)
plot(novoC,novoC,'k')
plot(cexp,novoC,'o')
xlabel("Valores observados (mg/g)")
ylabel("Valores preditos (mg/g)")

SST=(cexp-mean(cexp))*(cexp-mean(cexp));
SSR=fval;

R2=1-SSR/SST;

```

```
disp("R2 = ");  
disp(R2);
```

```
RMSD=sqrt(SST/10);  
disp("RMSD.=.");  
disp(RMSD);
```