

OBTENÇÃO DO ÓLEO DE SEMENTES DE NABO FORRAGEIRO UTILIZANDO ETANOL E ACETATO DE ETILA COMO ACIL ACEPTORES EM CONDIÇÕES PRESSURIZADAS

N. STEVANATO¹, B. T. F. MELLO², C. SILVA³

^{1,2,3} Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química

RESUMO – Este estudo investigou a extração do óleo das sementes de nabo forrageiro em condições pressurizadas utilizando diferentes solventes. As extrações por líquido pressurizado (ELP) foram conduzidas a temperatura de 135 °C, pressão de 50 bar e tempo extração de 50 min, utilizando etanol e acetato de etila como solventes. O efeito do tipo de solvente pressurizado foi avaliado em relação ao rendimento mássico (Y_M), rendimento em óleo (Y_O), fração do material não lipídico (w_{nl}) e teor de proteínas retido no farelo desengordurado e os resultados obtidos foram comparados com a extração convencional Soxhlet. Na ELP, o etanol forneceu maior rendimento mássico (Y_M) (33,09%), entretanto 37,18% deste valor é atribuído ao material não lipídico. Com a aplicação de acetato de etila pressurizado na extração do óleo, a quantidade de material não lipídico foi reduzida para 0,65%, atingindo 88,4% do Y_O da técnica Soxhlet. Além disso, o acetato de etila pressurizado resultou em maior teor de proteína retido no farelo desengordurado comparado ao etanol. O acetato de etila apresentou maior seletividade na ELP do óleo das sementes de nabo forrageiro, produzindo uma matéria-prima adequada para a síntese de biodiesel.

Palavras-chave: *Raphanus Sativus* L., Extração de óleo, solventes pressurizados.

ABSTRACT – *This study investigated the extraction of radish seeds oil under pressurized conditions using different solvents. Pressurized liquid extractions (PLE) were carried out at a temperature of 135 °C, pressure of 50 bar and extraction time of 50 min, using ethanol and ethyl acetate as solvents. The effect of the type of pressurized solvent was evaluated in relation to mass yield (Y_M), oil yield (Y_O), fraction of non-lipid material (w_{nl}) and protein content retained in the defatted bran and the results obtained were compared with the extraction conventional Soxhlet. In PLE, ethanol provided higher mass yield (Y_M) (33.09%), however 37.18% of this value is attributed to the non-lipid material. With the application of pressurized ethyl acetate in oil extraction, the amount of non-lipid material was reduced to 0.65%, reaching 88.4% of the Y_O of the Soxhlet technique. In addition, pressurized ethyl acetate resulted in higher protein content retained in the defatted bran compared to ethanol. Ethyl acetate showed greater selectivity in the PLE of radish seeds oil, producing a suitable raw material for the synthesis of biodiesel.*

Keywords: *Raphanus Sativus* L., Oil extraction, Pressurized solvents.

1. INTRODUÇÃO

O nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) é uma planta globalmente distribuída (ARRO; LABATE, 2021), cujas sementes são destinadas à extração de óleo, enquanto o farelo gerado como subproduto é aplicado na alimentação animal (CARRERA et al., 2012; ÍTAVO et al., 2015) ou como fertilizantes para correção de solos (SILVESTRE et al., 2018). O teor de óleo das sementes de nabo forrageiro varia entre 28% e 34% e sua composição é predominante em ácido oleico (~35%) e erúico (~22%) (SILVA et al., 2017; STEVANATO; SILVA, 2019). O ácido erúico é um ácido graxo insaturado de cadeia longa (C22:1), cuja a ingestão excessiva causa problemas à saúde (IMAMURA et al., 2013) e, por este motivo o óleo das sementes de nabo forrageiro é classificado como não comestível. Devido à estas características, aplicação deste óleo tem sido explorada para produção de biodiesel (FADHIL; SEDEEQ; AL-LAYLA, 2019; STEVANATO; SILVA, 2019).

A tecnologia que utiliza solventes em condições pressurizadas é um processo de intensificação que promove alto poder de solvatação aos fluidos (ARUMUGHAM et al., 2021). Pequenas alterações na temperatura e pressão provocam mudanças nas propriedades físicas dos fluidos como densidade, viscosidade, solubilidade e constante dielétrica. Devido à esta flexibilidade e a facilidade de ajuste, o processo em condições pressurizadas pode ser aplicado tanto na extração do óleo como na produção de biodiesel (LEE et al., 2014). A extração do óleo de matrizes oleaginosas é a primeira operação unitária do processo de produção de biodiesel. Dentre as técnicas existente para este fim, a extração por líquido pressurizado (ELP) se destaca como uma tecnologia avançada, a qual utiliza altas temperaturas e pressões, porém abaixo do ponto crítico do solvente (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020). A elevada temperatura provoca o rompimento das forças intermoleculares como forças de van der Waals, ligações de hidrogênio e forças de dipolo. Por outro lado, a elevada pressão mantém o solvente no estado líquido (SÁNCHEZ-CAMARGO et al., 2017). Como consequência, a taxa de transferência de massa é aumentada, enquanto a tensão superficial e a viscosidade são reduzidas, o que facilita o acesso do solvente no interior da matriz vegetal e promove altos rendimentos em menores tempos de extração (HERRERO et al., 2015). Desta forma, a ELP é considerada uma tecnologia promissora para a extração de óleo destinado à produção de biodiesel.

Estudos sobre o uso de solventes alternativos em condições pressurizadas para a extração de óleo têm ganhado destaque nos últimos anos (BARBI et al., 2020; CASTEJÓN; LUNA; SEÑORÁNS, 2018; SANTOS et al., 2021). Esta crescente busca, se deve às preocupações ambientais e com a saúde desencadeadas pelo uso extensivo do *n*-hexano (KUMAR et al., 2017). O etanol é um solvente emergente de base biológica que apresenta vantagens como baixa toxicidade, biodegradabilidade e renovabilidade (JESUS; FILHO, 2020; SÁNCHEZ-CAMARGO et al., 2019). Este solvente possui qualidade alimentar e é rotulado como Geralmente Reconhecido como Seguro (GRAS) (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2016). Portanto, o uso do etanol é recomendado quando a aplicação do farelo desengordurado para a alimentação é desejável (CAPELLINI et al., 2019; NAVARRO; RODRIGUES, 2018). Apesar das vantagens relacionadas à sua aplicação, a maior limitação do etanol na

extração do óleo é baixa seletividade, resultando na co-extração de compostos polares (BAÜMLER; CARRÍN; CARELLI, 2016; RODRIGUEZ et al., 2021). Como consequência, uma maior quantidade de impurezas é retida no óleo (AWOLU; MANOHAR, 2019), além de prejudicar a qualidade do farelo desengordurado, visto que a maior retenção de nutrientes durante a extração promove a melhor eficiência de utilização desse subproduto (LI; XIN; SUN, 2021).

Para promover a eficiência e seletividade na etapa de extração do óleo, o acetato de etila é proposto como solvente alternativo. O acetato de etila é um éster classificado como solvente “verde”, quando avaliado em relação à critérios como saúde humana, segurança, meio ambiente e resíduos gerados (ALDER et al., 2016). Devido a menor polaridade comparado ao etanol, o acetato de etila possui maior seletividade para lipídios neutros, compostos de interesse na produção de biodiesel e, portanto, pode atuar como solvente na extração do óleo da matriz oleaginosa (PARK et al., 2017; WU et al., 2017).

Neste sentido, o presente estudo tem como objetivo investigar a extração do óleo das sementes de nabo forrageiro utilizando diferentes solventes pressurizados. As extrações foram avaliadas quanto ao rendimento mássico (Y_M), rendimento em óleo (Y_O), fração do material não lipídico do óleo (w_{nl}) e teor de proteínas retido no farelo desengordurado e os resultados obtidos foram comparados com a extração convencional Soxhlet.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Sementes de nabo forrageiro (BRSEEDS, Araçatuba, SP, Brasil), acetato de etila (pureza $\geq 99,8\%$, Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil) e etanol absoluto (pureza $\geq 99,9\%$, PanReac AppliChem, Darmstadt, Alemanha), foram utilizados como solventes. *N*-hexano (PanReac AppliChem, Darmstadt, Alemanha) e etanol (95%, Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil) foram utilizados para determinar a fração do material não lipídico dos óleos obtidos. O teor de proteína do farelo foi determinado utilizando sulfato de cobre pentahidratado (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil), citrato de sódio (Dinâmica, Indaiatuba, São Paulo, Brasil), carbonato de sódio (Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil), hidróxido de sódio (Neon), reagente Folin & Ciocalteu's 2N (47641, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, Estados Unidos) e albumina bovina (A7906, Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, Estados Unidos).

2.2 Preparo da matéria-prima

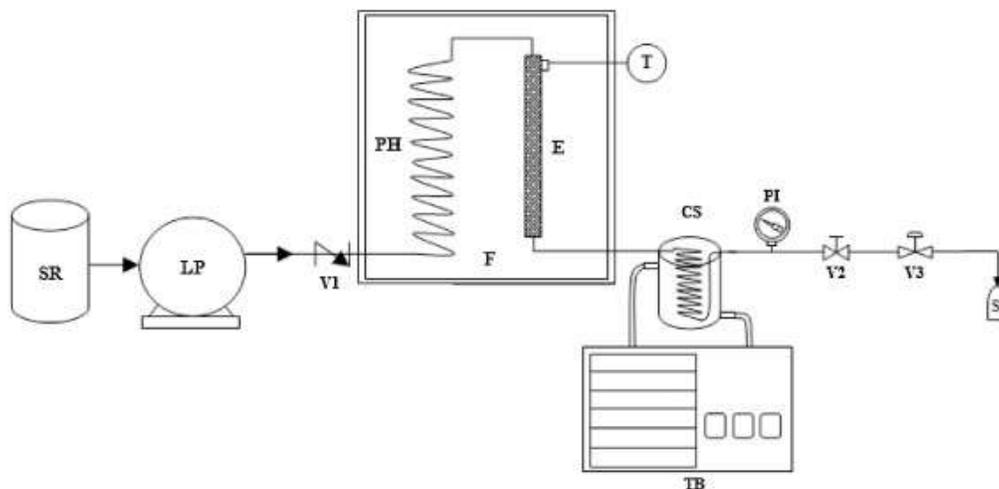
As sementes de nabo forrageiro foram submetidas ao tratamento térmico após imersão em água (TIAN et al., 2019). O procedimento consistiu basicamente na hidratação das sementes (3 h) em água destilada em uma proporção 1:3 (sementes: água, g/mL), seguida da secagem das sementes a 120 °C durante 1 h. Após o tratamento, as sementes foram trituradas em um moedor doméstico (Cadence, MDR302) e as cascas foram suspensas em uma corrente de ar e removidas. Em seguida foi realizada a

classificação granulométrica, na qual foram selecionadas as partículas com diâmetro médio de $0,92 \pm 0,09$ mm.

2.3. Extração de óleo

As extrações do óleo das sementes de nabo forrageiro foram conduzidas na unidade extratora previamente descrita por Mello et al. (2019), conforme apresentado na Figura 1, utilizando etanol e acetato de etila como solventes. As sementes foram pesadas (5,2 g) e carregadas na célula de extração. O sistema de extração foi preenchido com o solvente a uma vazão constante de 3 mL min^{-1} até atingir uma pressão de 50 bar, em paralelo a célula de extração foi aquecida em um forno até $135 \text{ }^\circ\text{C}$. Após percorrer o tempo estático de 10 min, a válvula agulha foi aberta e iniciou-se a extração dinâmica. A coleta do material de extração foi realizada em frascos previamente pesados, após percorrer o tempo de extração de 50 min. As condições experimentais foram adotadas com base nos resultados obtidos por Mello et al. (2021), que investigaram o efeito das variáveis operacionais na extração do óleo de nabo forrageiro, utilizando etanol com condições pressurizadas como solvente. Neste estudo, estas condições experimentais proporcionaram elevado rendimento em óleo e maior qualidade do óleo obtido em termos de compostos ativos (fitosteróis e tocoferol). Após a extração, o solvente foi removido em um evaporador rotativo (Marconi, MA 120) acoplado com bomba a vácuo (Quimis®, 0955V) à $45 \text{ }^\circ\text{C}$.

Figura 1 - Aparato experimental utilizado na extração do óleo de nabo forrageiro constituído por reservatório de solvente (SR), bomba de líquido de alta pressão (LP), check-valve (V1), forno de aquecimento (F), zona de pré-aquecimento (PH), célula de extração (E), indicador de temperatura (T), sistema de resfriamento (CS), banho termostático (TB), indicador de pressão (P1), válvula agulha (V2), válvula de redução de pressão (V3) e amostragem (S).



Fonte: Mello et al. (2019)

A extração convencional pelo método Soxhlet foi realizada para fins comparativos. Para isso, cerca de 5 g de sementes foram colocadas no extrator Soxhlet (Vidrolabor[®], Labor Quimi, Brasil) e um balão de fundo chato, acoplado ao extrator, foi preenchido com 150 mL de *n*-hexano e aquecido até a temperatura de ebulição do solvente (70 °C) sob refluxo por 8 h.

O rendimento mássico (Y_M) das extrações foi calculado a partir da relação entre a massa de extrato bruto obtida e massa de sementes utilizadas em cada extração e o rendimento em óleo (Y_O) foi determinado pela Equação 1.

$$Y_O (\%) = \frac{Y_M \times (100 - w_{nl})\%}{100} \quad (1)$$

em que Y_M (%) é o rendimento mássico e w_{nl} (%) é a fração do material não lipídico presente no extrato bruto.

O valor da fração do material não lipídico (w_{nl}) foi determinado de acordo a metodologia de Rodriguez et al. (2021), com modificações. O extrato obtido pela ELP, com massa previamente determinada, foi transferido para um tubo Falcon juntamente com *n*-hexano (10 mL), etanol (20 mL) e água destilada (5 mL). A mistura foi agitada e centrifugada (3500 rpm) durante 10 min. A fase superior, solúvel em *n*-hexano, foi separada da fase hidroalcolica, composta pelo material não lipídico, e coletada com uma pipeta Pasteur. Em seguida, foi adicionado *n*-hexano (3×15 mL) ao tubo Falcon e o procedimento de agitação, centrifugação e coleta do material foi repetido para cada adição do solvente. O solvente da fase superior foi removido por evaporação (70 °C) e a w_{nl} foi determinada pela diferença entre a fração mássica do extrato bruto e a fração mássica do material lipídico.

2.4 Determinação do teor de proteína solúvel do farelo desengordurado

A extração de proteínas do farelo foi realizada de acordo com Wani et al. (2006). Em um Erlenmeyer, foi adicionado cerca de 0,5 g de farelo e 35 mL de solução aquosa de NaOH (1,25 %). O Erlenmeyer foi agitado em um agitador orbital (Marconi, MA 839/A) a 200 rpm durante 45 min e a uma temperatura de 60 °C. Em seguida, a solução foi filtrada e extrato proteico obtido foi armazenado sob refrigeração até o momento da análise. O teor de proteína solúvel foi determinado de acordo com o método de Lowry et al. (1951), utilizando uma curva de calibração preparada com diferentes concentrações (0,025 a 0,600 mg mL⁻¹) de albumina bovina.

2.5 Análise de dados

Os dados experimentais foram obtidos em duplicata e analisados pela análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias ($p \leq 0,05$) usando o software Statistica[®] (versão

8.0).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados em termos de rendimento mássico (Y_M), rendimento em óleo (Y_O), fração do material não lipídico (w_{nl}) e teor de proteínas retido no farelo desengordurado obtidos na ELP utilizando etanol e acetato de etila como solventes, bem como a comparação com os resultados obtidos pelo método convencional Soxhlet.

Tabela 1 - Rendimento mássico (Y_M), fração do material não lipídico (w_{nl}), rendimento em óleo (Y_O) e teor de proteínas solúveis retido no farelo desengordurado das extrações do óleo das sementes de nabo forrageiro conduzidas com diferentes solventes pressurizados e pelo método Soxhlet.

Técnica de extração	Solvente	Y_M^1 (%)	w_{nl}^2 (%)	Y_O^3 (%)	Teor de proteína solúvel do farelo desengordurado (%)
ELP	Etanol	33,09 ± 0,64 ^a	37,18 ± 0,66 ^a	20,85 ± 0,43 ^c	11,79 ± 0,56 ^c
ELP	Acetato de etila	23,41 ± 0,43 ^c	4,28 ± 0,35 ^b	22,40 ± 0,33 ^b	22,81 ± 0,94 ^b
Soxhlet	<i>n</i> -Hexano	25,50 ± 0,59 ^b	0,65 ± 0,07 ^c	25,33 ± 0,59 ^a	31,09 ± 0,68 ^a

¹Rendimento mássico, ²Fração do material não lipídico, ³Rendimento em óleo.

Nota-se que a extração utilizando etanol pressurizado resultou em maior Y_M , atingindo um valor superior à extração Soxhlet. Entretanto o material extraído apresentou elevada w_{nl} , o que mostra que 37,18% do Y_M é atribuído a compostos não lipídicos extraídos durante o processo, acarretando em Y_O inferior aos demais métodos de extração. Este resultado é explicado parcialmente pelo menor teor de proteínas retido no farelo desengordurado obtido na ELP com etanol, uma vez que indica que houve extração concomitante do óleo e das proteínas na fase do extrato. Estudos mostram que o etanol apresenta capacidade de extrair proteínas (CAPELLINI et al., 2017; SAWADA et al., 2014). Isto se deve ao fato que proteínas ligadas a lipídios com cadeias laterais apolares podem ser extraídas com etanol, devido à natureza química do solvente como características parcialmente hidrofílicas e hidrofóbicas (CUI et al., 2017).

Hidalgo et al. (2016) mostraram que um solvente com maior polaridade produz um alto rendimento de extração de proteínas no extrato de lipídios, acarretando em um menor rendimento de extração de lipídios esterificáveis. Rodriguez et al. (2021) e Bäumlér et al. (2016) relataram que a w_{nl} do óleo de girassol obtido com etanol pode atingir até 40,41 e 31%, respectivamente. Esses resultados são consistentes o presente estudo e foram associados a presença de outros compostos no óleo como

fosfatídeos, polifenóis, pigmentos, açúcares e proteínas solúveis. Além disso, devido a maior polaridade (em termos de momento de dipolo) do etanol (4,9), comparado ao acetato de etila (4,1) e ao *n*-hexano (0,0) (NAWAZ et al., 2020), o etanol solubiliza grande parte dos lipídios polares como fosfolipídios e glicolipídios. Por outro lado, o momento de dipolo de lipídios neutros é próximo a zero e, portanto, essas moléculas são mais solúveis em solventes de menor polaridade (LI; XIN; SUN, 2021).

O óleo obtido pela ELP com acetato de etila apresentou menor w_{nl} e maior Y_O comparado a mesma técnica utilizando etanol como solvente. Este resultado mostra a elevada seletividade do acetato de etila pressurizado na obtenção do óleo de nabo forrageiro, sendo este capaz atingir 88,4% do Y_O da técnica Soxhlet em apenas 50 min, em contrapartida a técnica convencional requer 480 min. Wu et al. (2017) verificaram que na extração de óleo de microalga, o acetato de etila apresentou maior capacidade de extração de lipídios neutros e menor taxa de remoção de lipídios polares (glicolipídios e fosfolipídios) comparado ao etanol. Além disso, ao comparar a composição química do óleo de favela obtido por diferentes solventes, Santos et al. (2021) determinaram que o óleo obtido com aceto de etila apresentou maior teor de triglicérides comparado aos óleos obtido com etanol e *n*-hexano.

4. CONCLUSÃO

Neste estudo foi investigado o uso de solventes pressurizados emergentes na obtenção do óleo das sementes de nabo forrageiro. Apesar do etanol ser um solvente GRAS, sua aplicação na ELP promoveu a extração concomitante de compostos não lipídicos e resultou em menor Y_O . O acetato de etila mostrou excelente seletividade na extração de óleo sob condições pressurizadas e maior Y_O comparado ao etanol, atingindo 88,4% do Y_O da técnica Soxhlet. O farelo desengordurado oriundo da extração com acetato de etila apresentou maior teor de proteínas, portanto este solvente promoveu maior retenção de nutrientes, o que é de grande interesse quando deseja-se aplicar o subproduto gerado na extração de óleo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

5. REFERÊNCIAS

ALDER, C. M.; HAYLER, J. D.; HENDERSON, R. K.; REDMAN, A. M.; SHUKLA, L.; SHUSTER, L. E.; SNEDDON, H. F. Updating and further expanding GSK's solvent sustainability guide. **Green Chemistry**, v. 18, n. 13, p. 3879–3890, 2016.

ALVAREZ-RIVERA, G.; BUENO, M.; BALLESTEROS-VIVAS, D.; MENDIOLA, J. A.; IBÁÑEZ, E. Pressurized Liquid Extraction. *In: Liquid-Phase Extraction*. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 375–398.

ARRO, J.; LABATE, J. A. Genetic variation in a radish (*Raphanus sativus* L.) geodiversity collection. **Genetic Resources and Crop Evolution**, 2021.

ARUMUGHAM, T.; K, R.; HASAN, S. W.; SHOW, P. L.; RINKLEBE, J.; BANAT, F. Supercritical carbon dioxide extraction of plant phytochemicals for biological and environmental applications – A review. **Chemosphere**, v. 271, 129525, 2021.

AWOLU, O. O.; MANOHAR, B. Quantitative and qualitative characterization of mango kernel seed oil extracted using supercritical CO₂ and solvent extraction techniques. **Heliyon**, v. 5, n. 12, e03068, 2019.

BARBI, R. C. T.; SOUZA, A. R. C. DE; MELO, A. M. DE; TEIXEIRA, G. L.; CORAZZA, M. L.; RIBANI, R. H. Fatty acid profile and lipid quality of *Maximiliana maripa* oil obtained by supercritical CO₂ and pressurized ethanol. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 165, 104979, 2020.

BAÜMLER, E. R.; CARRÍN, M. E.; CARELLI, A. A. Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent. **Journal of Food Engineering**, v. 178, p. 190–197, 2016.

CAPELLINI, M. C.; CHIAVOLONI, L.; GIACOMINI, V.; RODRIGUES, C. E. C. Alcoholic extraction of sesame seed cake oil: Influence of the process conditions on the physicochemical characteristics of the oil and defatted meal proteins. **Journal of Food Engineering**, v. 240, p. 145–152, 2019.

CAPELLINI, M. C.; GIACOMINI, V.; CUEVAS, M. S.; RODRIGUES, C. E. C. Rice bran oil extraction using alcoholic solvents - Physicochemical characterization of oil and protein fraction functionality. **Industrial Crops & Products**, v. 104, p. 133–143, 2017.

CARRERA, R. A. B.; VELOSO, C. M.; KNUPP, L. S.; SOUZA JÚNIOR, A. H. DE; DETMANN, E.; LANA, R. DE P. Protein co-products and by-products of the biodiesel industry for ruminants feeding. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 5, p. 1202–1211, 2012.

CASTEJÓN, N.; LUNA, P.; SEÑORÁNS, F. J. Alternative oil extraction methods from *Echium plantagineum* L. seeds using advanced techniques and green solvents. **Food Chemistry**, v. 244, p. 75–82, 2018.

CUI, Q.; NI, X.; ZENG, L.; TU, Z.; LI, J.; SUN, K.; CHEN, X.; LI, X. Optimization of protein extraction and decoloration conditions for tea residues. **Horticultural Plant Journal**, v. 3, n. 4, p. 172–176, 2017.

FADHIL, A. B.; SEDEEQ, S. H.; AL-LAYLA, N. M. T. Transesterification of non-edible seed oil for biodiesel production: characterization and analysis of biodiesel. **Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects**, v. 41, n. 7, p. 892–901, 2019.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Title 21 Food and Drugs (21 CFR 170.3)**. Disponível em: <<https://www.govinfo.gov/content/pkg/CFR-2016-title21-vol3/pdf/CFR-2016-title21-vol3.pdf>>. Acesso em: 2 nov. 2021.

HERRERO, M.; SÁNCHEZ-CAMARGO, A. P.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 26–38, 2015.

HIDALGO, P.; CIUDAD, G.; NAVIA, R. Evaluation of different solvent mixtures in esterifiable lipids extraction from microalgae *Botryococcus braunii* for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 201, p. 360–364, 2016.

IMAMURA, F.; LEMAITRE, R. N.; KING, I. B.; SONG, X.; STEFFEN, L. M.; FOLSOM, A. R.;

SISCOVICK, D. S.; MOZAFFARIAN, D. Long-chain monounsaturated fatty acids and incidence of congestive heart failure in 2 prospective cohorts. **Circulation**, v. 127, n. 14, p. 1512–1521, 2013.

ÍTAVO, L. C. V.; SOARES, C. M.; ÍTAVO, C. C. B. F.; DIAS, A. M.; PETIT, H. V.; LEAL, E. S.; SOUZA, A. D. V. DE. Calorimetry, chemical composition and in vitro digestibility of oilseeds. **Food Chemistry**, v. 185, p. 219–225, 2015.

JESUS, S. S. DE; FILHO, R. M. Recent advances in lipid extraction using green solvents. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 133, 110289, 2020.

KUMAR, S. P. J.; PRASAD, S. R.; BANERJEE, R.; AGARWAL, D. K.; KULKARNI, K. S.; RAMESH, K. V. Green solvents and technologies for oil extraction from oilseeds. **Chemistry Central Journal**, v. 11, n. 9, p. 1–7, 2017.

LEE, K. T.; LIM, S.; PANG, Y. L.; ONG, H. C.; CHONG, W. T. Integration of reactive extraction with supercritical fluids for process intensification of biodiesel production: Prospects and recent advances. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 45, p. 54–78, 2014.

LI, C. J.; XIN, M. R.; SUN, Z. L. Selection of extraction solvents for edible oils from microalgae and improvement of the oxidative stability. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 132, n. 4, p. 365–371, 2021.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

MELLO, B. T. F. DE; IWASSA, I. J.; CUCO, R. P.; GARCIA, V. A. S.; SILVA, C. Methyl acetate as solvent in pressurized liquid extraction of crambe seed oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, p. 66–73, 2019.

MELLO, B. T. F. ; STEVANATO, N.; CARDOZO FILHO, L.; SILVA, C. Pressurized liquid extraction of radish seed oil using ethanol as solvent: Effect of pretreatment on seeds and process variables. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 176, 105307, 2021.

NAVARRO, S. L. B.; RODRIGUES, C. E. C. Macadamia oil extraction with alcoholic solvents: yield and composition of macadamia oil and production of protein concentrates from defatted meal. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, n. 7, 1800092, 2018.

NAWAZ, H.; SHAD, M. A.; REHMAN, N.; ANDALEEB, H.; ULLAH, N. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, 17129, 2020.

PARK, J.; KIM, B.; CHANG, Y. K.; LEE, J. W. Wet in situ transesterification of microalgae using ethyl acetate as a co-solvent and reactant. **Bioresource Technology**, v. 230, p. 8–14, 2017.

RODRIGUEZ, L. M.; FERNÁNDEZ, M. B.; PÉREZ, E. E.; CRAPISTE, G. H. Performance of green solvents in the extraction of sunflower oil from enzyme-treated collets. **European Food Research and Technology**, v. 123, 2000132 (1–8), 2021.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A. DEL P.; BUENO, M.; PARADA-ALFONSO, F.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Hansen solubility parameters for selection of green extraction solvents. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 227–237, 2019.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A. DEL P.; IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A.; HERRERO, M. Bioactives obtained from plants, seaweeds, microalgae and food by-products using pressurized liquid extraction

and supercritical fluid extraction. *In: Comprehensive Analytical Chemistry*. [s.l.] Elsevier, 2017. v. 76p. 27–51.

SANTOS, K. A.; AGUIAR, C. M.; SILVA, E. A.; SILVA, C. Evaluation of favela seed oil extraction with alternative solvents and pressurized-liquid ethanol. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 169, p. 105125, 2021.

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**, v. 62, p. 662–670, 2014.

SILVA, S. B.; SANTOS GARCIA, V. A.; ARROYO, P. A.; SILVA, C. Ultrasound-assisted extraction of radish seed oil with methyl acetate for biodiesel production. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 95, n. 11, p. 2142–2147, 2017.

SILVESTRE, W. P.; GALAFASSI, P. L.; FERREIRA, S. D.; GODINHO, M.; PAULETTI, G. F.; BALDASSO, C. Fodder radish seed cake biochar for soil amendment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 25, p. 25143–25154, 2018.

STEVANATO, N.; SILVA, C. Radish seed oil: Ultrasound-assisted extraction using ethanol as solvent and assessment of its potential for ester production. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 283–291, 2019.

TIAN, L.; REN, Y.; YANG, R.; ZHAO, Q.; ZHANG, W. Combination of thermal pretreatment and alcohol-assisted aqueous processing for rapeseed oil extraction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 7, p. 3509–3516, 2019.

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**, v. 94, n. 1, p. 67–73, 2006.

WU, J.; ALAM, M. A.; PAN, Y.; HUANG, D.; WANG, Z.; WANG, T. Enhanced extraction of lipids from microalgae with eco-friendly mixture of methanol and ethyl acetate for biodiesel production. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 71, p. 323–329, 2017.