

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

**JÔNATAS LOPES DIAS**

**EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA E TÉCNICAS CONVENCIONAIS DE  
EXTRAÇÃO NA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA  
SEMENTE DE UMBU (*Spondias tuberosa*)**

RECIFE

2017

**JÔNATAS LOPES DIAS**

**EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA E TÉCNICAS CONVENCIONAIS DE  
EXTRAÇÃO NA OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA  
SEMENTE DE UMBU (*Spondias tuberosa*)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos  
Linha de pesquisa: Processos Químicos Industriais  
Orientador: Prof. Dr. Luiz Stragevitch  
Coorientador: Prof. Dr. Leandro Danielski

Recife

2017

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

D541e Dias, Jônatas Lopes.  
Extração supercrítica e técnicas convencionais de extração na obtenção de compostos bioativos da semente de umbu (*Spondias tuberosa*) / Jônatas Lopes Dias. – 2017.  
119 folhas, il., gráfs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Stragevitch.  
Coorientador: Prof. Dr. Leandro Danielski.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2017.  
Inclui Referências e Apêndices.

1. Engenharia Química. 2. *Spondias tuberosa*. 3. Extração supercrítica.  
4. Extração supercrítica. 5. Compostos fenólicos. 6. Antioxidantes. 7. Ácidos graxos. I. Stragevitch, Luiz. (Orientador). II. Danielski, Leandro. (Coorientador). III. Título.

UFPE

660.2 CDD (22. ed.)

BCTG/2017-365

## JÔNATAS LOPES DIAS

*EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA E TÉCNICAS CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO NA  
OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA SEMENTE DE UMBU (*Spondias  
tuberosa*)*

### **Linha de Pesquisa: Processos Químicos Industriais**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, defendida e aprovada em 30 de Maio de 2017 pela banca examinadora constituída pelos seguintes membros:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr. Luiz Stragevitch/UFPE-DEQ  
(Orientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr. Leandro Danielski/UFPE-DEQ  
(Coorientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Celmy Maria Bezerra M. Barbosa/UFPE-DEQ  
(Examinadora Interna)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Araújo Honorato – UFPE/DEQ  
(Examinadora Externa)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Moreira Azoubel/UFPE-DEQ  
(Examinadora Interna)

*Aos meus familiares, por todo incentivo,  
força, e apoio em todos os momentos.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Aos Professores Drs. Leandro Danielski e Luiz Stragevitch pela orientação, apoio, dedicação e paciência fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

Ao Professor Dr. Luiz Alberto Lira Soares do Laboratório de Farmacognosia – UFPE, que possibilitou a utilização de suas instalações para a realização de vários experimentos. Agradeço também à sua equipe, em especial à M<sup>a</sup>. Júlia Souza pela contribuição na realização dos experimentos.

À Professora Sandra Regina Salvador Ferreira do LATEC – UFSC, que disponibilizou seu laboratório para a realização de alguns ensaios. Agradeço também à sua equipe, em especial à Dr<sup>a</sup> Simone Mazzuti pela contribuição na realização dos experimentos.

Ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE pelo apoio na realização de algumas análises.

Aos amigos que fiz durante o curso de mestrado, Delma Sarmento, Davison Cavalcanti, Manoel Gomes, Rodrigo Duarte, Jackson, Jadiete Thaylana, Gyselli Silva, Júlia Souza, Isabelle Ferraz, Magda Ferreira e Bruno Santos.

À Laís, minha namorada, amiga e companheira.

À Eleusa, Dito e Nida Lopes pela força, carinho e apoio.

À minha mãe, que mesmo à distância me deu todo o apoio.

Mantenha-se faminto por coisas novas, mantenha-se certo de sua ignorância. Continue ávido por aprender, continue ingênuo e humilde para procurar. Tenha fome de vida, sede de descobrir. ***Stay hungry, stay foolish!***

Steve Jobs

## RESUMO

*Spondias tuberosa*, conhecido popularmente no Brasil como umbu, produz um fruto amplamente consumido na região Nordeste do Brasil. Essa planta tem sido extensivamente estudada devido à presença de compostos bioativos com propriedades medicinais. Porém, estudos acerca do potencial de aplicação das sementes, um dos resíduos agroindustriais sem aplicação definida, são escassos. Esta pesquisa objetiva investigar o potencial da semente de umbu como fonte de antioxidantes e ácidos graxos essenciais, utilizando métodos convencionais de extração e tecnologia supercrítica, com o objetivo de agregar valor à cadeia produtiva deste. O presente trabalho avaliou o perfil de ácidos graxos (AG), o conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) e a atividade antioxidante (AA) dos extratos de *S. tuberosa* obtidos por extração supercrítica (ESC) com CO<sub>2</sub> puro e com a adição de etanol/H<sub>2</sub>O como cossolvente, *Soxhlet* e extração assistida por ultrassom (EAU). Os ensaios com ESC foram realizados isotermicamente (313 K) nas condições de pressão de 15 MPa, 20 MPa e 30 MPa. Extratos obtidos por *Soxhlet* foram conduzidos com etanol e n-hexano a 369 K, enquanto que os ensaios de EAU foram conduzidos com os mesmos solventes, porém a temperatura ambiente. A cinética de extração e o emprego de cossolvente no processo de extração supercrítica também foram avaliados. Os extratos obtidos por ultrassom com etanol/H<sub>2</sub>O e *Soxhlet* com etanol apresentaram os maiores rendimentos, 10,93% e 9,12 %, respectivamente. A ESC de semente de umbu apresentou rendimentos semelhantes àqueles alcançados nas extrações à baixa pressão com *Soxhlet* e ultrassom. O emprego de 5 % de solução etanol/H<sub>2</sub>O como cossolvente no processo de extração supercrítica não aumentou significativamente o rendimento de extração. O teor de CFT foi avaliado pelo método de Folin-Ciocalteu e a AA foi investigada pelo método de oxidação do sistema β-caroteno/ácido linoleico e pelo método de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Os melhores resultados, tanto para CFT como para AA, foram observados para os extratos obtidos com solventes polares. Através de análise de correlação, observou-se que grande parte do potencial antioxidante dos extratos está relacionado com seu o teor de CFT. Nos extratos de semente de umbu foi possível identificar (com exceção dos extratos obtidos com etanol/água) os ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico, sendo os ácidos oleico e linoleico os que apresentaram maior percentual. Os extratos produzidos com n-hexano, CO<sub>2</sub> e etanol mostram-se ser fontes de ácidos graxos essenciais, sendo seu perfil de ácidos graxos semelhante ao de óleos com várias aplicações industriais. A utilização das sementes de umbu como matéria-prima para obtenção de compostos bioativos mostrou-se adequada e interessante do ponto de vista ambiental, podendo ser capaz de aumentar o valor agregado dos resíduos da indústria de umbu.

**Palavras-chave:** *Spondias tuberosa*. Extração supercrítica. Extração convencional. Compostos fenólicos. Antioxidantes. Ácidos graxos.



## ABSTRACT

*Spondias tuberosa*, popularly known in Brazil as umbu, is a widely consumed fruit in the Northeast region of Brazil. This plant has been extensively studied due to the presence of bioactive compounds with medicinal properties. However, studies on the potential application of the seeds, which are an agro-industrial waste without specific application, are scarce. The aim of this work was to investigate the potential of the umbu seeds as a source of antioxidants and essential fatty acids using conventional extraction methods and supercritical technology, with the purpose of adding value to the production chain. This work evaluated the fatty acids profile (FA), the content of total phenolic compounds (TPC) and the antioxidant activity (AA) of the extracts of *S. tuberosa* obtained by supercritical extraction (SFE) with pure CO<sub>2</sub> and with the addition of the cosolvent, soxhlet and ultrasonic-assisted extraction (UAE). Assays were performed isothermally with SFE (313 K) the pressure conditions of 15 MPa, 20 MPa and 30 MPa. The SFE tests were performed isothermally (313 K) under the pressure conditions of 15 MPa, 20 MPa and 30 MPa. Extracts obtained by Soxhlet were run with ethanol and n-hexane at 369 K, while the UAE tests were conducted with the same solvents, but at room temperature. Kinetics of extraction and the use of cosolvents in the supercritical extraction process were also evaluated. The extracts obtained by ultrasound with ethanol/H<sub>2</sub>O and soxhlet with ethanol presented highest yields, 10.93% and 9.12%, respectively. SFE assays showed yields similar to those achieved in the low pressure, as Soxhlet and ultrasonic extractions. The use of 5% solution of ethanol/H<sub>2</sub>O as a cosolvent in supercritical fluid extraction process did not increase significantly the yield of extraction. The TPC content was evaluated by the Folin-Ciocalteu method and AA was investigated by the  $\beta$ -carotene/linoleic acid bleaching method and 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method. The best results, for both TPC and AA, were observed for the extracts obtained with polar solvents. Through correlation analysis, it was observed that a great part of the antioxidant potential of the extracts is related to its content of TPC. In the extracts, it was possible to identify palmitic, stearic, oleic, linoleic and linolenic acids (with the exception of extracts obtained with ethanol/water), with oleic and linoleic acids having the highest percentage. Extracts produced with n-hexane, ethanol and CO<sub>2</sub> showed to be good sources of essential fatty acids, and fatty acid profile was similar to oils containing various industrial applications. The use of the umbu seeds as raw material to obtain bioactive compounds proved to be adequate and environmentally interesting, could be a source for increase the added value of the residues of the umbu industry.

**Keywords:** *Spondias tuberosa*. Supercritical extraction. Conventional extraction. Phenolic compounds. Antioxidants. Fatty acids.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Fruto do umbuzeiro. ....	21
<b>Quadro 1</b> - Compostos bioativos presentes em umbu e suas atividades biológicas. ....	23
<b>Figura 2</b> - Estrutura química dos principais ácidos $\omega$ -3 e $\omega$ -6. ....	27
<b>Quadro 2</b> - Propriedades biológicas dos AG ....	28
<b>Figura 3</b> - Classificação do Antioxidantes fenólicos.....	34
<b>Quadro 3</b> - Classificação dos polifenóis e suas estruturas químicas básicas.....	35
<b>Figura 4</b> - Esquema do mecanismo de extração .....	37
<b>Figura 5</b> - Extrator Soxhlet.....	39
<b>Figura 6</b> - Sistemas ultrassônicos geralmente utilizados. (A) Banho ultrassônico, (B) Extrator ultrassônico com agitação, (C) Sonda ultrassônica, (D) Sistema contínuo com sonda ultrassônica. ....	41
<b>Figura 7</b> - Diagrama pressão temperatura para uma substância pura. ....	43
<b>Figura 8</b> - Diagrama do processo de extração supercrítica com reciclo de .....	46
<b>Figura 9</b> - Esquema de processo de ESC em múltiplo estágio.....	47
<b>Figura 10</b> - Variação da massa específica reduzida ( $\rho_R$ ) de um componente puro em função da pressão reduzida ( $P_R$ ) e da temperatura reduzida ( $T_R$ ).....	49
<b>Figura 11</b> - Variação do parâmetro de solubilidade de Hildebrand para o CO <sub>2</sub> em função da temperatura e pressão.....	50
<b>Figura 12</b> - Massa específica e solubilidade em função da pressão. ....	52
<b>Figura 13</b> - Dados de solubilidade do AATR em CO <sub>2</sub> supercrítico como uma função da pressão e em diferentes isotermas.....	53
<b>Figura 14</b> - Efeito do tamanho das partículas no rendimento de extração de óleo de girassol por FS (CO <sub>2</sub> ). ....	55
<b>Figura 15</b> - Diagrama do processo de ESC em leito fixo, considerando as três.....	60
<b>Figura 16</b> - (A) Sementes de umbu despulpada. ....	63
<b>Figura 17</b> - Frações das sementes de umbu: (A) Fração grosseira; (B) Fração fina. ....	64
<b>Figura 18</b> - Sistema de extração ultrassônica utilizado nos experimentos. ....	68
<b>Figura 19</b> - Esquema simplificado da unidade de extração supercrítica.....	69
<b>Figura 20</b> - Esquema do empacotamento do leito na coluna de extração. ....	71

<b>Figura 21</b> - Micrografia da semente de umbu moída. ....	77
<b>Figura 22</b> - Curva global de extração (CGE) do extrato de semente de umbu .....	78
<b>Figura 23</b> - Modelagem cinética da ESC de óleo de semente de umbu a 20MPa,...	80
<b>Figura 24</b> - Curva padrão de ácido gálico utilizada no cálculo de CFT.....	118
<b>Figura 25</b> - Gráficos de dispersão da análise de correlação de Pearson. ....	119

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Estrutura e nomenclatura dos AG mais comuns.....	25
<b>Tabela 2</b> - Comparação entre as propriedades físicas dos gases, líquidos e fluidos críticos.....	44
<b>Tabela 3</b> - Propriedades críticas de alguns compostos.....	45
<b>Tabela 4</b> - Parâmetro de solubilidade Hidelbrand de alguns solventes usados em processos de extração, na pressão de 0,1 MPa. ....	51
<b>Tabela 5</b> - Parâmetros de caracterização da matéria-prima e do leito fixo de partículas. ....	76
<b>Tabela 6</b> - Parâmetros cinéticos da ESC de semente de umbu a 20 MPa, 313 K e .	79
<b>Tabela 7</b> -Parâmetros ajustáveis dos modelos utilizados. ....	81
<b>Tabela 8</b> - Rendimento dos extratos totais obtidos por várias técnicas de extração.	84
<b>Tabela 9</b> - Teor de compostos fenólicos totais (CFT) nos extratos de semente de umbu obtidos por várias técnicas de extração. ....	86
<b>Tabela 10</b> - Valores de atividade antioxidante (AA %) dos extratos de semente de umbu obtidos pelo método de descoloração do sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.	90
<b>Tabela 11</b> - Valores de concentração efetiva ( $EC_{50}$ ) dos extratos de semente de umbu obtidos pelo método de captura do radical DPPH.....	92
<b>Tabela 12</b> - Coeficientes correlação de Pearson entre os parâmetros de atividade antioxidante e o teor de fenólicos totais. ....	94
<b>Tabela 13</b> - Perfil de ácidos graxos dos extratos de semente de umbu. (Continua) .	97
<b>Tabela 14</b> - Teor de AG com relação ao percentual de AG saturados (AGS), AG insaturados (AGI), AG monoinsaturados (AGMI), AG polinsaturados (AGPI) e razão entre AG $\omega$ -6/ $\omega$ -3. Teor de AG com relação ao percentual de AG saturados (AGS), AG insaturados (AGI), AG monoinsaturados (AGMI), AG polinsaturados (AGPI) e razão entre AG $\omega$ -6/ $\omega$ -3. ....	99

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	Ácidos graxos
AGE	Ácidos graxos essenciais
AGI	Ácidos graxos insaturados
AGMI	Ácidos graxos monoinsaturados
AGPI	Ácidos graxos polinsaturados
CER	Etapa de taxa constante de extração
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CG-DIC	Cromatografia gasosa com detector de ionização de chama
EAU	Extração assistida por ultrassom
EQM	Erro quadrático médio
ESC	Extração supercrítica
ESC-CS	Extração supercrítica sequencial com cossolvente
FER	Etapa de taxa decrescente de extração
FS	Fluido supercrítico
TAH	Transferência de átomos de hidrogênio
TES	Transferência de elétrons simples

## LISTA DE SÍMBOLOS

$b$	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez <i>et al.</i> (2003) ( $\text{min}^{-1}$ )
$b_1$	Parâmetro ajustável do modelo de Esquível <i>et al.</i> (1999) ( $\text{min}^{-1}$ )
$c$	cis
$D_{ap}$	Coefficiente de difusão ( $\text{m}^2/\text{min}$ )
$H$	Comprimento total do leito de extração (cm)
$J(X,Y)$	Termo interfacial de transferência de massa
$k_{xa}$	Coefficiente de transferência de massa na fase sólida ( $\text{s}^{-1}$ )
$k_{ya}$	Coefficiente de transferência de massa na fase fluida ( $\text{s}^{-1}$ )
$M$	Taxa de extração (g/min)
$m_E$	Massa de extrato (g, kg)
$m_{SI}$	Massa de sólido inerte (g, kg)
$n$	Número inteiro
$P$	Pressão (Pa)
$P_c$	Pressão crítica (MPa)
$P_R$	Pressão reduzida
$Q_{CO_2}$	Vazão de solvente (g/min, kg/h)
$r$	Raio da partícula sólida (cm)
$T$	Temperatura (K)
$T_c$	Temperatura (K)
$T_R$	Temperatura reduzida
$t$	Tempo de extração (min)
$t_m$	Parâmetro ajustável do modelo de Martínez <i>et al.</i> (2003) (min)
$x_0$	Razão mássica de extrato na matéria-prima (kg/kg)
RND%	Rendimento de extração (%)
$X$	Razão mássica de soluto na fase sólida (kg/kg, g/g)
$X_k$	Razão mássica de soluto de difícil acesso (kg/kg, g/g)
$X_p$	Razão mássica de soluto de fácil acesso (kg/kg, g/g)

$Y^*$	Solubilidade do soluto no solvente (kg/kg, g/g)
$Y$	Razão mássica de soluto no solvente (kg/kg, g/g)
$Z$	Parâmetro do modelo de Sovová (1994) relacionado com a convecção na fase fluida do leito de extração
$Z_w$	Parâmetro do segundo período de extração do modelo de Sovová (1994)
$W$	Parâmetro do modelo de Sovová (1994) relacionado com a difusão na fase sólida do leito de extração
$\varepsilon$	Porosidade do leito de extração
$\rho$	Massa específica do solvente (kg/m <sup>3</sup> , g/cm <sup>3</sup> )
$\rho_a$	Massa específica aparente do leito (kg/m <sup>3</sup> , g/cm <sup>3</sup> )
$\rho_r$	Massa específica real das partículas (kg/m <sup>3</sup> , g/cm <sup>3</sup> )
$\rho_R$	Massa específica crítica
$\rho_s$	Massa específica do sólido (kg/m <sup>3</sup> , g/cm <sup>3</sup> )
$\omega - 6$	Ácido graxo ômega 6
$\omega - 3$	Ácido graxo ômega 3.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>21</b>
2.1	O UMBU ( <i>Spondias tuberosa</i> )	21
2.2	ÁCIDOS GRAXOS	24
2.3	ANTIOXIDANTES E COMPOSTOS FENÓLICOS	31
2.4	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO	37
<b>2.4.1</b>	<b>Extração por Soxhlet</b>	<b>38</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Extração assistida por ultrassom</b>	<b>39</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Extração supercrítica (ESC)</b>	<b>42</b>
2.4.3.1	Efeito das condições operacionais no rendimento da extração supercrítica (ESC)	48
2.4.3.1.1	<i>Efeito da pressão e temperatura</i>	48
2.4.3.1.2	<i>Efeito da razão solvente/sólido</i>	54
2.4.3.1.3	<i>Efeito do tamanho das partículas</i>	54
2.4.3.2	Modelagem cinética do processo de ESC	56
2.4.3.2.1	<i>Modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999)</i>	57
2.4.3.2.2	<i>Modelo de Crank (1975)</i>	58
2.4.3.2.3	<i>Modelo de Martínez et al. (2003)</i>	59
2.4.3.2.4	<i>Modelo de Sovová (1994)</i>	59
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>63</b>
3.1	OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	63
3.2	PRÉ-TRATAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA	64
3.3	TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS	65



3.4	DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA REAL DAS PARTÍCULAS _____	65
3.5	DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA APARENTE DO LEITO DE PARTÍCULAS, DO DIÂMETRO MÉDIO E DA POROSIDADE DO LEITO FIXO _____	65
3.7	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS TOTAIS _____	66
<b>3.7.1</b>	<b>Extração por Soxhlet</b> _____	<b>66</b>
<b>3.7.2</b>	<b>Extração assistida por Ultrassom</b> _____	<b>67</b>
<b>3.7.3</b>	<b>Extração Supercrítica</b> _____	<b>68</b>
<b>3.7.4</b>	<b>Modelagem Cinética</b> _____	<b>71</b>
3.8	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE _____	72
<b>3.8.1</b>	<b>Compostos Fenólicos totais</b> _____	<b>72</b>
<b>3.8.2</b>	<b>Método de descoloração do sistema <math>\beta</math>-caroteno/ácido linoleico</b> _____	<b>73</b>
<b>3.8.3</b>	<b>Captura do radical DPPH</b> _____	<b>74</b>
3.9	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DOS EXTRATOS _____	75
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> _____	<b>76</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO LEITO FIXO _____	76
4.2	PROCESSOS DE EXTRAÇÃO _____	78
<b>4.2.1</b>	<b>Determinação da cinética de extração supercrítica</b> _____	<b>78</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Obtenção dos extratos totais</b> _____	<b>83</b>
4.3	DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS _____	85
4.4	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE _____	89

4.4.1	<b>Método de descoloração do sistema <math>\beta</math>-caroteno/ácido linoleico</b>	<b>89</b>
4.4.2	<b>Método de captura do radical DPPH</b>	<b>91</b>
4.4.3	<b>Correlação entre o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante</b>	<b>93</b>
4.5	<b>PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DOS EXTRATOS</b>	<b>95</b>
5	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>101</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>103</b>
	<b>APÊNDICE A – Curva Padrão de Ácido gálico</b>	<b>1178</b>
	<b>APÊNDICE B – Gráficos de dispersão da análise de correlação de Pearson</b>	<b>119</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A região do Semiárido Brasileiro é uma das regiões desérticas mais densamente habitadas do mundo, ocupando cerca de 11% do território brasileiro. A principal vegetação é a Caatinga, um ecossistema com número expressivo de espécies raras e endêmicas (PEREIRA JÚNIOR *et al.*, 2014). A Caatinga é um dos biomas brasileiros mais degradados pela ação do homem, fazendo-se necessária a implementação de ações que visem à exploração sustentável e à conservação dos recursos vegetais (RÊGO JÚNIOR *et al.*, 2011).

Um das formas de estimular a exploração sustentável é a agregação de valor à cadeia produtiva através do aproveitamento de resíduos agrícolas para produção de produtos com alto valor de mercado, tais como compostos bioativos.

Os resíduos agroindustriais são ricos em diversos componentes com atividade biológica, tais como compostos fenólicos, fitoesteróis, tocoferóis e terpenos (SANTANA-MÉRIDAS; GONZÁLEZ-COLOMA; SÁNCHEZ-VIOQUE, 2012). A busca por compostos bioativos naturais com potencial para o tratamento e prevenção de doenças humanas e para atender outras necessidades é atualmente um tema-chave em diversos setores produtivos.

O umbu (*Spondias tuberosa*) tem recebido atenção especial de diversos grupos de pesquisa devido ao seu potencial na obtenção de compostos bioativos, como antioxidantes (RUFINO *et al.*, 2009) e antivirais (SILVA *et al.*, 2011). Porém, tais atividades foram relatadas para a polpa e folhas de umbuzeiro, fazendo-se necessário um estudo acerca do potencial das sementes, que são resíduos agroindustriais sem aplicabilidade definida.

Compostos bioativos de matrizes vegetais podem ser extraídos através de diversas técnicas convencionais. A maioria destas metodologias são baseadas no poder de extração de vários solventes com aplicação de calor e/ou agitação. Entretanto, as técnicas convencionais apresentam várias desvantagens, como longo tempo de extração, necessidade de solventes de alto teor de pureza (alto custo), evaporação de enorme quantidade de solvente, baixa seletividade, toxicidade dos

solventes e decomposição de substâncias termolábeis (AZMIR *et al.*, 2013; GIL-CHÁVEZ *et al.*, 2013).

Dentre as técnicas não convencionais, destaca-se a extração com fluido supercrítico (ESC) que oferece várias vantagens operacionais em relação aos métodos tradicionais de extração, graças à sua baixa viscosidade e alta difusividade em relação aos líquidos. Os fluidos supercríticos (FS) apresentam propriedades de transporte interessantes, podendo difundir facilmente através de materiais sólidos, oferecendo altas taxas de extração. Uma das principais características de um FS é a possibilidade de ajustar sua massa específica, alterando sua pressão e temperatura. Uma vez que a massa específica está relacionada com a solubilidade de um determinado soluto no FS, através da alteração da pressão e/ou temperatura de extração, o poder de solvatação do fluido pode ser modificado (SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

Em particular, a ESC com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico merece destaque entre os demais solventes, devido à sua natureza não inflamável, atóxica e condições de processamento acessíveis. Adicionalmente, devido à sua temperatura crítica baixa (304,15 K), a degradação de compostos termolábeis pode ser evitada (MARTIN; SKINNER; MARRIOTT, 2015).

Diante do exposto, esta pesquisa objetiva investigar o potencial da semente de umbu (*Spondias tuberosa*) como fonte de antioxidantes e ácidos graxos essenciais utilizando métodos convencionais de extração e tecnologia supercrítica, com o objetivo de agregar valor à cadeia produtiva deste.

Como objetivos específicos desta pesquisa, citam-se:

- Caracterizar a matéria-prima empregada;
- Avaliar os métodos de extração empregados com relação aos rendimentos totais;
- Investigar a cinética de extração utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico e modelar matematicamente esse processo;
- Avaliar os perfis de ácidos graxos dos extratos;

- Determinar o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante nos extratos obtidos.

Para tanto, o capítulo 2 apresenta aspectos teóricos relevantes para contextualização dos objetivos propostos. A metodologia experimental empregada, assim como sua completa descrição, é apresentada no capítulo 3. No capítulo 4 são apresentados os resultados experimentais obtidos e discussão. As conclusões gerais são apresentadas no capítulo 5.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O UMBU (*Spondias tuberosa*)

O umbu (Figura 1) é o fruto do umbuzeiro, planta frutífera do gênero *Spondias*, nativa da região semiárida do Nordeste brasileiro. Este fruto é uma drupa<sup>1</sup>, com diâmetro que varia entre 2 e 4 cm e massa entre 10 e 20 g, constituído por 22% de casca, 68 % de polpa e 10 % de semente. Sua superfície é lisa com casca de cor amarelo-esverdeada, tem polpa branco-esverdeada, mole, succulenta, quase aquosa quando madura e sabor agri-doce (PAULA *et al.*, 2012).



**Figura 1** - Fruto do umbuzeiro.

Fonte: <http://www.cerratinga.org.br/umbu/>

---

<sup>1</sup> Drupa é um tipo de fruto carnoso, com apenas uma semente, sendo esta aderida ao endocarpo de maneira que só pode ser separada mecanicamente; exemplo: pêssego (PAULA *et al.*, 2012).

O umbuzeiro pode ser encontrado do estado do Ceará ao norte de Minas Gerais, particularmente em regiões com precipitação pluviométrica média anual entre 400 mm e 800 mm. Devido a adaptações únicas da espécie ao Semiárido, como floração e frutificação durante a estação seca, esta é considerada uma "planta sagrada" pelos povos dessas regiões. Os frutos recebem mais atenção das populações do Nordeste do Brasil, porque são um alimento alternativo, fornecem subsistência para o gado durante os períodos de escassez de pastagens nativas, e também são uma importante fonte de rendimento durante os períodos em que se verificam as carências das principais culturas (milho e feijão). Assim, em um sentido econômico, esta árvore tornou-se extremamente importante para o Nordeste do Brasil. O fato de que a árvore é uma espécie típica da Caatinga, reforça a importância dos estudos sobre o potencial econômico desse tipo de espécie, a fim de promover o desenvolvimento na região (NETO *et al.*, 2012).

Estudos reportam quantidades significativas de compostos bioativos em várias partes e produtos do umbu (Quadro 1). Os compostos mais comumente reportados são os compostos fenólicos. Associados à identificação e quantificação dos componentes químicos, geralmente são relatados o potencial antioxidante dos extratos por vários métodos de mensuração de atividade antioxidante, além de outros tipos de atividade biológica.

**Quadro 1** - Compostos bioativos presentes em umbu e suas atividades biológicas.  
(Continua)

<b>Matéria-prima</b>	<b>Compostos bioativos identificados</b>	<b>Atividade biológica</b>	<b>Referência</b>
Folha	Rutina, quercetina e ácido elágico	Antioxidante e antibacteriana	(SILVA <i>et al.</i> , 2012)
	Rutina, quercetina e ácido elágico	Antiviral	(SILVA <i>et al.</i> , 2011)
	Vários fenólicos	Anti-inflamatória	(SIQUEIRA <i>et al.</i> , 2016)
Polpa	Ácido ascórbico, carotenoides, antocianinas, flavonoides, outros polifenóis	Antioxidante	(RUFINO <i>et al.</i> , 2010)
	Ácido ascórbico, antocianinas, fenólicos totais		(ALMEIDA <i>et al.</i> , 2011)
	Vários fenólicos	Antioxidante, inibição da enzima acetilcolinesterase, quimioprevenção do câncer	(ZERAİK <i>et al.</i> , 2016)



**Quadro 1** – Continuação.

Polpa	Antocianinas, flavonoides e carotenoides	Antioxidante	(ZIELINSKI <i>et al.</i> , 2014)
Casca, polpa e semente	Fenóis, taninos, flavonoides, catequinas, triterpenoides e esteróis	Antioxidante e inibição da enzima acetilcolinesterase	(OMENA <i>et al.</i> , 2012)
Casca do tronco	Taninos e ácido ascórbico	Antioxidante	(ARAÚJO <i>et al.</i> , 2012)

A maioria dos estudos focam em compostos polares presentes na polpa e folha do umbu. Essa constatação motiva uma pesquisa mais detalhada sobre compostos bioativos de baixa polaridade que possam estar presentes na semente.

## 2.2 ÁCIDOS GRAXOS

Os ácidos graxos (AG) são ácidos carboxílicos alifáticos, geralmente de cadeia linear. A maioria dos AG naturais apresenta comprimento entre 4 e 22 átomos de carbono, sendo os AG com 18 carbonos os mais comuns. São conhecidos mais de 1000 AG com diferentes comprimentos de cadeia, posições, configurações e tipos de insaturação, e uma gama de substituintes adicionais ao longo da cadeia alifática. No entanto, apenas cerca de 20 AG ocorrem amplamente na natureza. Desses, os ácidos palmítico, oleico e linoleico constituem aproximadamente 80% da composição dos óleos e gorduras naturais (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).

Na Tabela 1 são apresentados os AG mais comuns, sua estrutura e nomenclatura.

**Tabela 1** - Estrutura e nomenclatura dos AG mais comuns.

<b>Estrutura</b>	<b>Nomenclatura</b>	<b>Abreviatura</b>
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Palmítico	16:0
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Palmitoleico	16:1; 9c
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Esteárico	18:0
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Oleico	18:1; 9c
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Linoleico	18:2; 9c, 12c
$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_3(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	$\alpha$ -linolênico	18:3; 9c, 12c, 15c
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_4(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Araquidônico	20:4; 5c, 8c, 11c, 14c
$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_5(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Eicosapentaenoico	20:5 5c, 8c, 11c, 14c, 17c
$\text{CH}_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_6(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	Docosaheptaenoico	22:6 4c, 7c, 10c, 13c, 16c, 19c

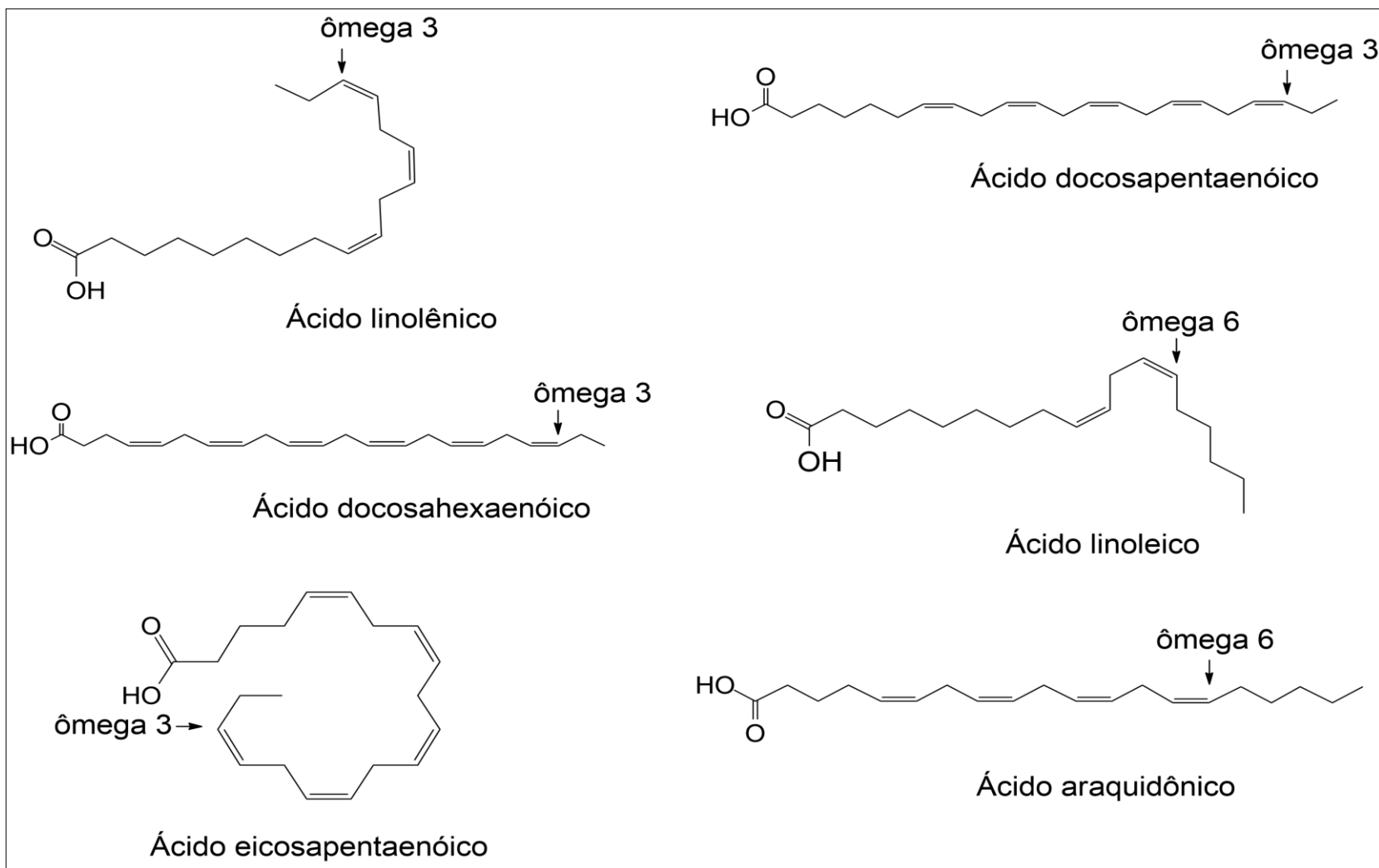
*c* – configuração *cis*.

Fonte: (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).

Alguns AG são chamados de “ácidos graxos essenciais” (AGE), referindo-se aos ácidos graxos polinsaturados (AGPI) que devem ser fornecidos pela dieta, uma vez que não podem ser sintetizados pelo organismo, mas são necessários para a saúde. Os AGE são geralmente classificados em ômega-3 ( $\omega$ -3) e ômega-6 ( $\omega$ -6), dependendo da posição da primeira ligação dupla em relação ao grupo terminal metil do ácido graxo. Os principais ácidos  $\omega$ -3 encontrados em fontes alimentares são os

ácidos linolênico, docosahexaenoico, eicosapentaenoico e docosapentaenoico, enquanto que os principais ácidos  $\omega$ -6 são os ácidos linoleico e araquidônico (ABEDI; SAHARI, 2014; KAUR; CHUGH; GUPTA, 2012).

As estruturas moleculares dos AG mencionados acima está ilustrada Figura 2.



**Figura 2** – Estruturas químicas dos principais ácidos  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6.  
 Fonte: (NIST, 2017).

Os AG  $\omega$ -3 têm comprovado uma vasta gama de funções fisiológicas, conforme apresentado na Quadro 2.

**Quadro 2** - Propriedades biológicas dos AG. (Continua)

<b>Papel fisiológico</b>	<b>Benefício para a saúde</b>	<b>Doença-alvo</b>
Regulação da pressão sanguínea	Diminuição da pressão sanguínea	Hipertensão, doenças cardiovasculares
Regulação da função plaquetária	Diminuição da possibilidade de trombose	Trombose, doenças cardiovasculares
Regulação da coagulação sanguínea	Diminuição da possibilidade de trombose	Trombose, doenças cardiovasculares
Regulação da concentração de triglicerídeos no plasma	Diminuição da concentração de triglicerídeos no plasma	Hipertrigliceridemia, doenças cardiovasculares
Regulação da função vascular	Reatividade vascular melhorada	Doenças cardiovasculares
Regulação do ritmo cardíaco	Diminuição das arritmias cardíacas	Doenças cardiovasculares
Regulação da frequência cardíaca	Aumento da variabilidade da frequência cardíaca	Doenças cardiovasculares
Regulação da inflamação	Diminuição de processos inflamatórios	Doenças inflamatórias e cardiovasculares

**Quadro 2 - Continuação**

<b>Papel fisiológico</b>	<b>Benefício para a saúde</b>	<b>Doença-alvo</b>
Regulação da função imune	Aumento da imunidade	Imunidade comprometida
Regulação do metabolismo de ácidos graxos e triglicerídeos	Diminuição do armazenamento e síntese triglicerídeos	Ganho de peso, obesidade
Regulação da remodelação óssea	Manutenção da massa óssea	Osteoporose
Regulação da sensibilidade a insulina	Aumento da sensibilidade a insulina	Diabetes tipo 2
Regulação do crescimento de células tumorais	Diminuição do crescimento de células tumorais	Alguns tipos de câncer
Regulação da sinalização visual (via rodopsina)	Sinalização visual otimizada	Fraco desenvolvimento visual infantil
Componente estrutural do cérebro e do sistema nervoso central	Desenvolvimento otimizado do cérebro levando a melhores processos cognitivos e de aprendizagem	Aprendizado e comportamento cognitivo deficiente

Fonte: (CALDER, 2012).

Os AG são também reconhecidamente substâncias com propriedades antimicrobianas. Os AG saturados de cadeia média, com comprimento de cadeia de 6 a 14 carbonos apresentaram maior atividade contra as bactérias gram-positivas, mas a atividade contra bactérias gram-negativas é baixa. Para AG de cadeia longa, a insaturação leva a um aumento da atividade antibacteriana, e o ácido graxo monoinsaturado ácido palmitoleico (C16:1), apresenta a maior atividade. Uma ligação dupla adicional, como ocorre do ácido oleico (C18:1) para o ácido linoleico (C18:2), geralmente leva a um aumento na atividade antimicrobiana. Os isômeros *cis* são ativos enquanto que isômeros *trans* não possuem atividade. Verificou-se que o ácido eicosapentaenoico (C20:5) é ativo contra uma gama de bactérias gram-positivas e gram-negativas, incluindo *Staphylococcus aureus* resistente à metilina em concentrações micromolares (THORMAR, 2011).

O mecanismo de ação antimicrobiana dos AG ainda não foi bem elucidado, mas o alvo principal parece ser a membrana celular bacteriana e os vários processos essenciais que ocorrem no interior da membrana. Alguns dos efeitos danosos nas células bacterianas podem ser atribuídos às propriedades detergentes dos AG, devido às suas estruturas anfipáticas. Isso permite que eles interajam com a membrana celular para criar diversos poros. Em concentrações mais elevadas, componentes com propriedades detergentes, tais como os AG, podem solubilizar a membrana até o ponto que as várias proteínas da membrana ou seções maiores da bicamada lipídica sejam “desprendidas”. Através desse dano na membrana, a produção de energia na célula é comprometida devido à interferência na cadeia de transporte de elétrons e à interrupção da fosforilação oxidativa. Outros processos que podem contribuir para a inibição do crescimento e morte bacteriana incluem a lise celular, a inibição da atividade enzimática, o comprometimento da absorção de nutrientes e a geração de produtos de peroxidação e auto-oxidação tóxicos (DESBOIS; SMITH, 2010).

## 2.3 ANTIOXIDANTES E COMPOSTOS FENÓLICOS

Antioxidantes são compostos ou sistemas que retardam a auto-oxidação através da inibição da formação de radicais livres ou pela interrupção da propagação de radicais livres por vários mecanismos: captura de iniciadores da peroxidação; quelação de íons metálicos que podem gerar espécies reativas ou peróxidos lipídicos; prevenção da formação de peróxidos através da mitigação de espécies reativas de oxigênio; quebra da reação em cadeia de auto-oxidação e/ou redução de concentrações localizadas de oxigênio (ASIMI; SAHU; PAL, 2013).

Os antioxidantes podem ser classificados como "antioxidantes primários" (aqueles que inibem ativamente as reações de oxidação) ou "antioxidantes secundários" (aqueles que inibem indiretamente a oxidação, por mecanismos como captura de oxigênio, ligação a compostos prooxidantes, dentre outros). Os mecanismos de redução dos antioxidantes primários podem ser agrupados em duas categorias: transferência de átomos de hidrogênio (TAH) e transferência de elétrons simples (TES) (CRAFT *et al.*, 2012; NDHLALA; MOYO; VAN STADEN, 2010).

O mecanismo TAH ocorre quando um composto antioxidante extingue espécies de radicais livres doando átomos de hidrogênio. O esquema de reação abaixo ilustra o mecanismo TAH. Um componente antioxidante (abreviado como um anel aromático [Ar] e um grupo hidroxil [OH]) doa um átomo H para um radical livre instável e neste processo torna-se um radical livre. Essa espécie mais estável é então menos propensa a propagar outras reações radicais com substratos de iniciação (CRAFT *et al.*, 2012).



O mecanismo TES descreve os casos em que um antioxidante transfere um único elétron para redução de compostos-alvos potenciais. Os seguintes esquemas reacionais ilustram um mecanismo TES, no qual um antioxidante transfere um único elétron para uma espécie reativa de oxigênio. O radical catiônico resultante é então desprotonado através da interação com água (CRAFT *et al.*, 2012).





Os antioxidantes mais eficazes são aqueles que interrompem a reação em cadeia. Normalmente esses antioxidantes contêm anéis aromáticos, doam H• aos radicais livres formados durante a oxidação, tornando-se um outro radical, porém mais estável. Tais radicais são estabilizados por ressonância do elétron com o anel aromático (BREWER, 2011).

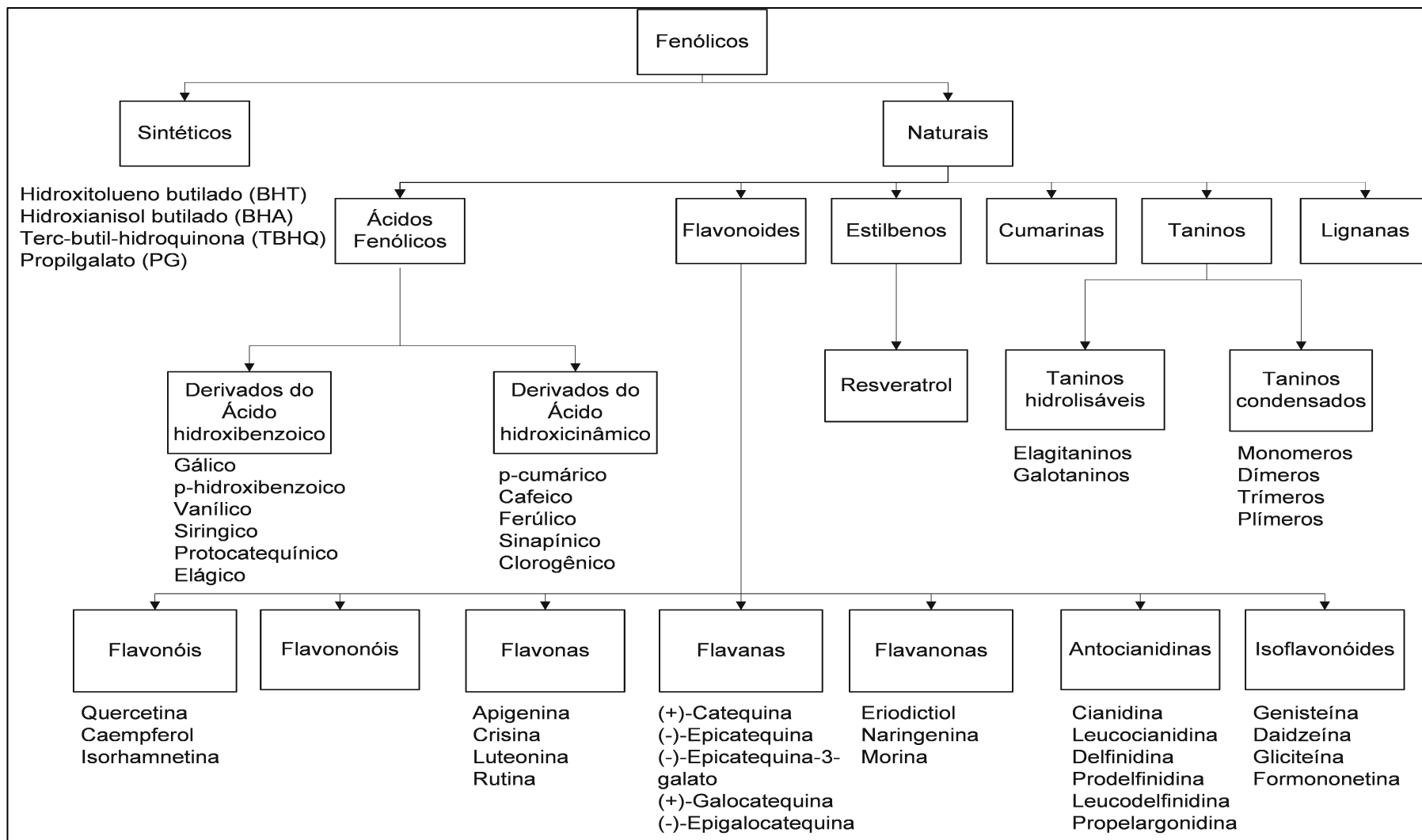
Os antioxidantes cobrem diferentes classes de compostos que podem interferir com ciclos oxidativos para inibir ou retardar o dano oxidativo de biomoléculas. As principais classes de compostos com atividade antioxidante são: vitaminas (C e E), carotenoides (carotenos e xantofilas) e polifenóis (flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos) (OROIAN; ESCRICHE, 2015).

Em particular, compostos fenólicos de fontes naturais apresentam excelentes propriedades como conservantes de alimentos, bem como um papel importante na proteção contra uma série de distúrbios patológicos (AFAQ; KATIYAR, 2011; ANDÚJAR *et al.*, 2012; BASLI *et al.*, 2012; FARZAEI; ABDOLLAHI; RAHIMI, 2015; LALL *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2014; KHURANA *et al.*, 2013; OPARA; CHOCHAN, 2014; PANDEY; RIZVI, 2009). Os fenólicos são um dos principais constituintes dos alimentos vegetais, sendo responsáveis parcialmente pelas propriedades sensoriais dos mesmos. Além disso, os polifenóis têm muitas aplicações industriais; por exemplo, podem ser utilizados como corantes naturais e conservantes para alimentos, ou na produção de tintas, papel e cosméticos (IGNAT; VOLF; POPA, 2011).

Os fenólicos são compostos que possuem um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxila. Eles são amplamente distribuídos no reino vegetal e são os metabólitos secundários mais abundantes em plantas, com mais de 8000 estruturas fenólicas atualmente conhecidas, que vão desde moléculas simples (como os ácidos fenólicos) até substâncias altamente polimerizadas, como os taninos. Fenólicos de origem vegetal são geralmente envolvidos na defesa contra a radiação

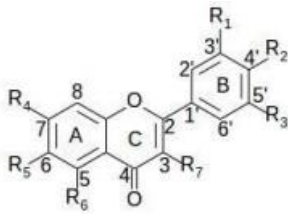
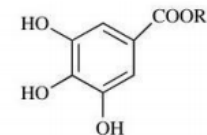
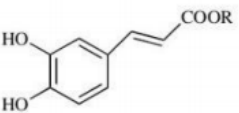
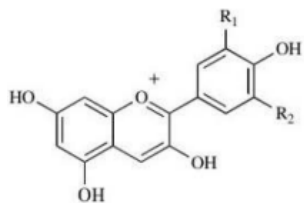
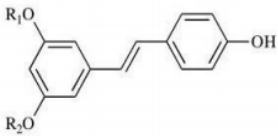
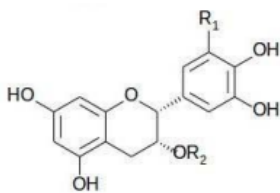
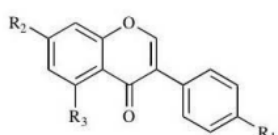
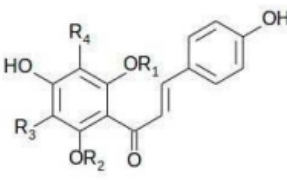
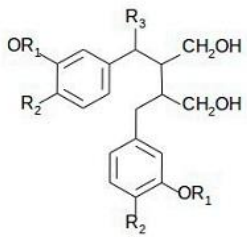
ultravioleta ou agressão por patógenos, parasitas e predadores. Além disso, contribuem para a coloração dos vegetais. Eles estão presentes em todos os órgãos das plantas e, portanto, são parte integrante da dieta humana. (DAI; MUMPER, 2010).

Os compostos fenólicos compreendem uma grande variedade de moléculas com um ou mais anéis fenólicos e são divididos em várias classes de acordo com o número de anéis fenólicos e elementos estruturais que ligam esses anéis uns aos outros (Figura 3 e) (IGNAT; VOLF; POPA, 2011).

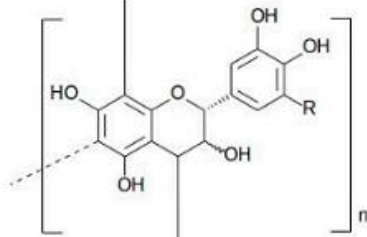
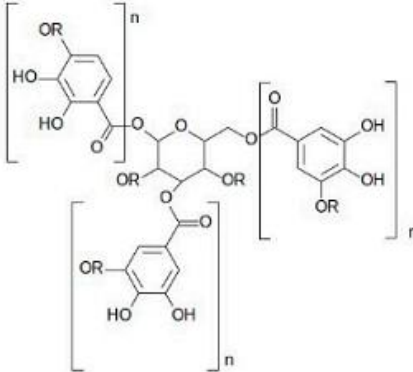


**Figura 3** - Classificação dos Antioxidantes fenólicos.  
Fonte: SHAHIDI; AMBIGAIPALAN (2015).

**Quadro 3** - Classificação dos polifenóis e suas estruturas químicas básicas.  
(Continua).

Classe	Estrutura	Classe	Estrutura
Flavonóis Flavonas Flavanonas		Ácido benzoico  Ácido hidroxicinâmico	  
Antocianidinas		Estilbenos	
Catequinas		Isoflavonas	
Chalconas		Lignananas	

**Quadro 3** – Continuação.

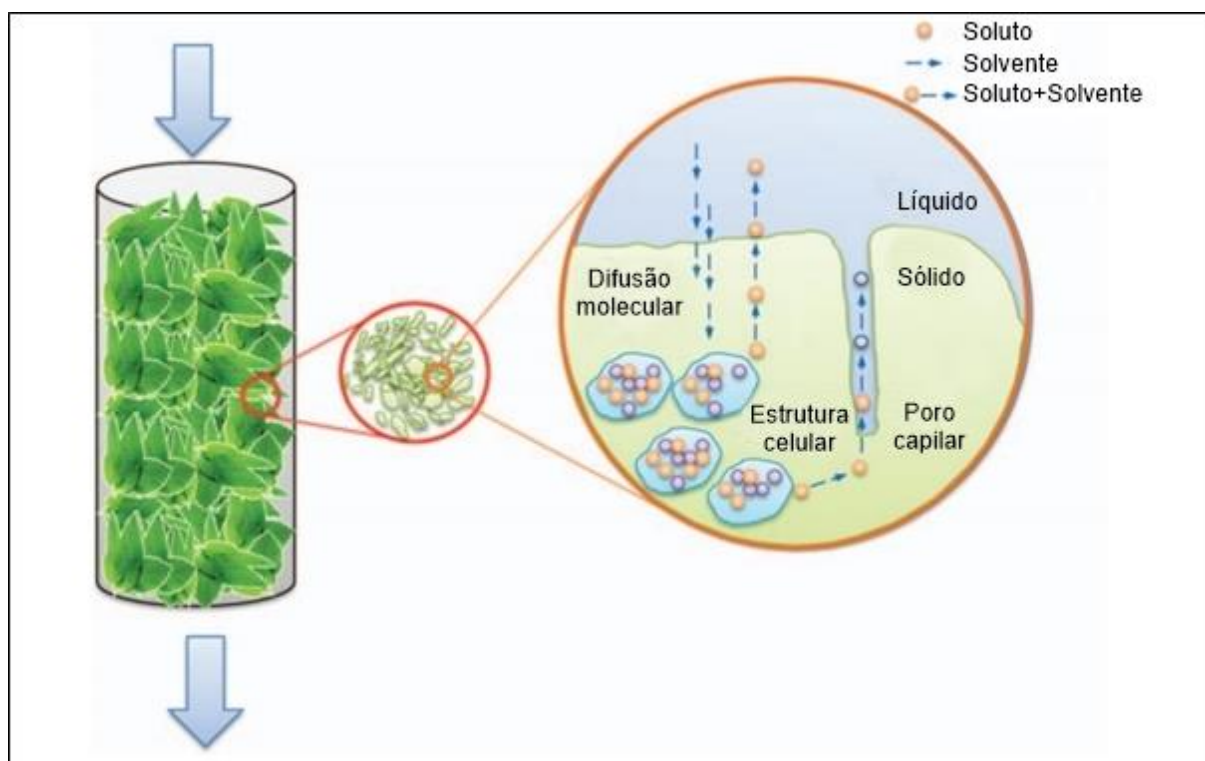
Taninos condensados	
Taninos hidrolisáveis	

Fonte: (MOJZER *et al.*, 2016).

## 2.4 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

O processo de extração é definido, do ponto de vista fenomenológico, como uma operação de transferência de massa de um ou mais componentes de uma fase para outra. O mecanismo de extração envolve várias etapas, as quais estão apresentadas na Figura 4 (ROSTAGNO; PRADO, 2013).

1. Solvente é transferido da fase fluida para a fase sólida e permeia o interior da partícula sólida;
2. O solvente penetra no sólido pelo mecanismo de difusão molecular;
3. Os componentes solúveis são solubilizados por desorção da matriz vegetal e solvatação no solvente;
4. A solução contendo os solutos desejados retorna à superfície da partícula sólida por difusão molecular;
5. A solução é transportada da superfície sólida para o seio do fluido através do mecanismo de convecção (natural ou forçada).



**Figura 4** - Esquema do mecanismo de extração.  
Fonte: (ROSTAGNO; PRADO, 2013).

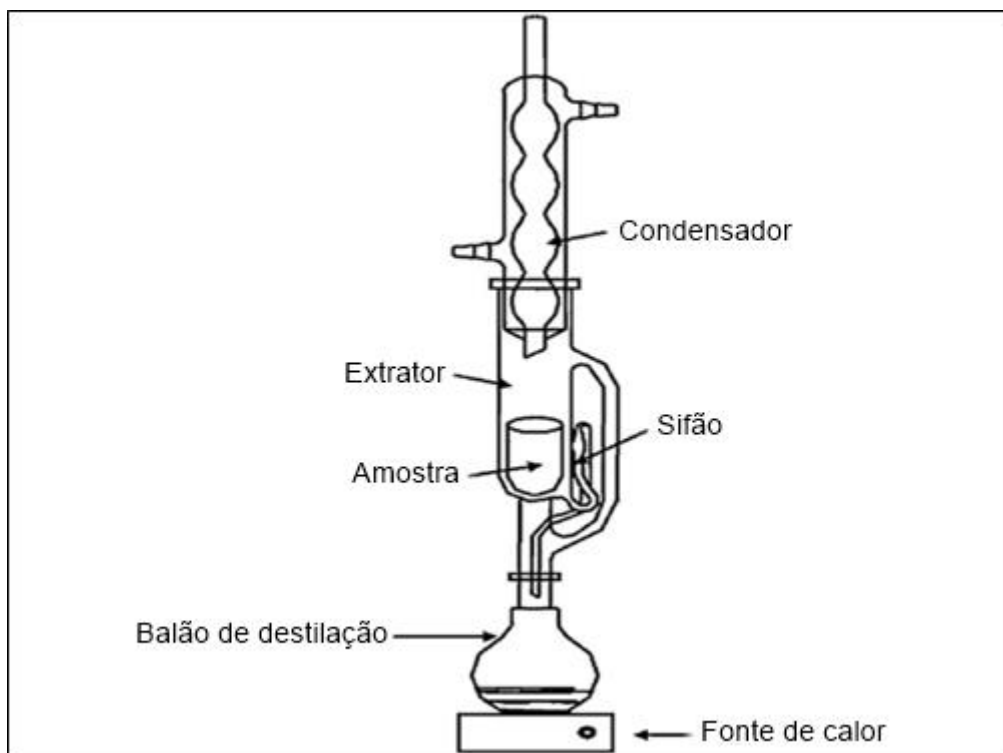
Diversos métodos de extração podem ser encontrados na literatura. Geralmente, esses métodos são classificados em métodos convencionais e não convencionais. Dentre as técnicas convencionais, as mais comumente usadas são: extração por *Soxhlet*, destilação (com água e/ou vapor) e maceração. Adicionalmente, as extrações com solventes orgânicos podem ser assistidas por ultrassom. Já entre os métodos não convencionais, a extração com fluidos supercríticos (ESC) tem recebido bastante atenção.

Na sequência são apresentados aspectos teóricos sobre as técnicas de extração utilizadas neste trabalho.

#### **2.4.1 Extração por Soxhlet**

Esse método vem sendo utilizado há muito tempo e é uma técnica padrão de extração que serve para a avaliação de desempenho de métodos mais modernos. Essa técnica está bem estabelecida e supera em desempenho outras técnicas convencionais, devido ao seu alto poder de extração, decorrente do uso de temperaturas relativamente moderadas que diminui a viscosidade do solvente e aumenta a taxa de extração (WANG; WELLER, 2006).

O material vegetal é acondicionado em cartuchos apropriados e, em seguida, colocado no extrator (Figura 5), que é gradualmente preenchido com o solvente que foi condensado do balão de destilação. Quando o líquido dentro do extrator atinge um determinado nível, este é aspirado por um sifão e descarregado para o balão de destilação, essa operação é repetida até que todo soluto desejado seja extraído (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).



**Figura 5** - Extrator Soxhlet.

Fonte: (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Dentre as vantagens da extração por *Soxhlet*, as mais importantes são: deslocamento do equilíbrio causado pelo contato contínuo do solvente fresco com a matriz sólida; baixo custo; simplicidade e nenhuma necessidade de filtração após percolação. As principais desvantagens desta metodologia são: longo tempo de extração; grande volume de solvente necessário; impossibilidade de agitação do meio líquido no dispositivo de *Soxhlet* – o que aceleraria o processo de extração; necessidade de etapas de evaporação/concentração do solvente; e possibilidade de decomposição térmica dos compostos termolábeis (WANG; WELLER, 2006).

#### 2.4.2 Extração assistida por ultrassom

A técnica de extração assistida por ultrassom (EAU) é uma tecnologia emergente que têm sido muito estudada (ALONSO-CARRILLO *et al.*, 2017; HELENO *et al.*, 2016; JULIANO *et al.*, 2017; MITTAL *et al.*, 2017; PERRIER *et al.*, 2017; SHIRSATH *et al.*, 2017). O ultrassom é bastante conhecido por ter um efeito

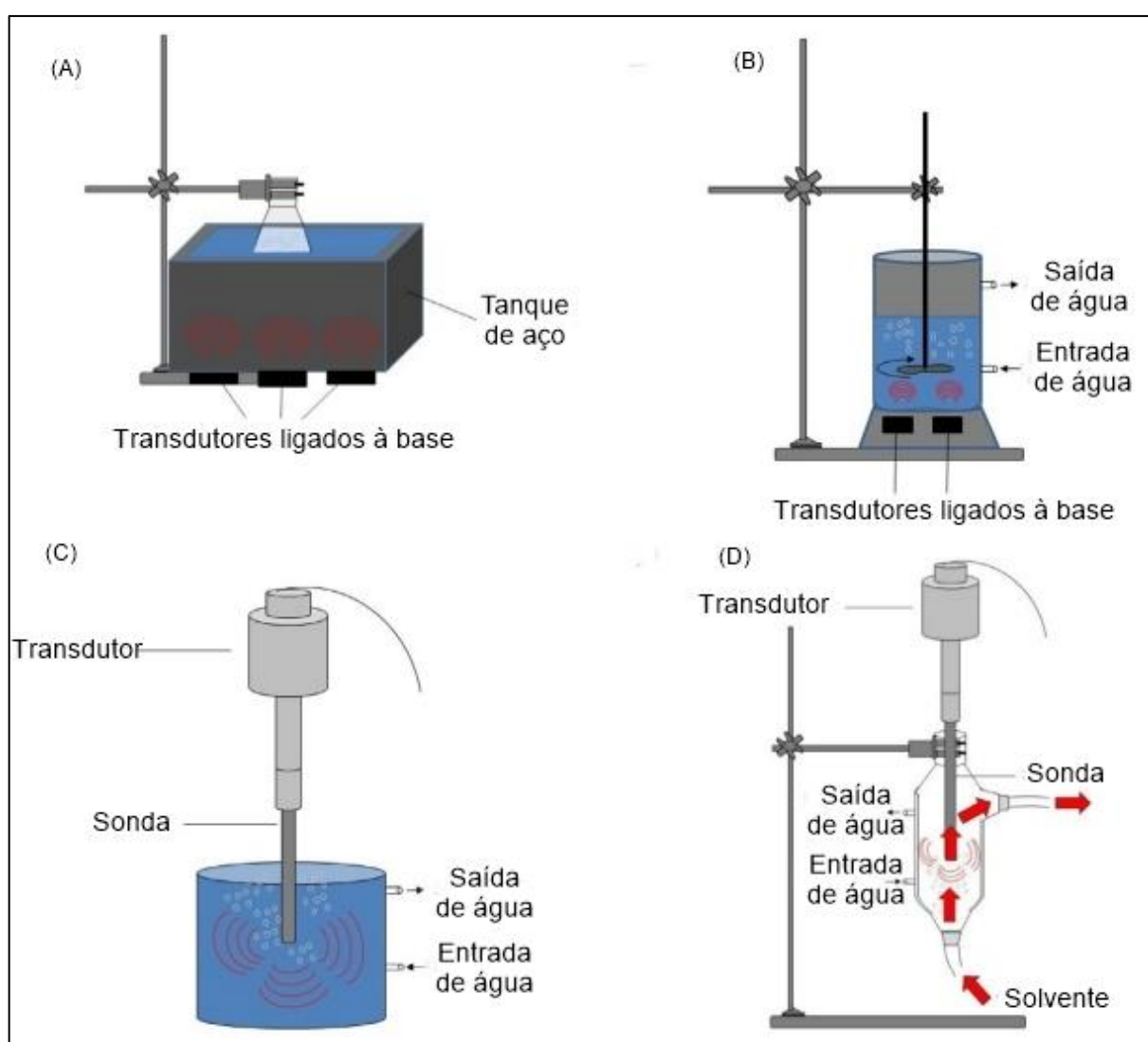


expressivo na taxa de vários processos na indústria química e alimentar. Muita atenção tem sido dada à aplicação do ultrassom para a extração de produtos naturais que normalmente demandam longo tempo de extração por métodos convencionais. Através do ultrassom, extrações completas podem ser realizadas em minutos, com alta reprodutibilidade. Além do mais, o consumo de solvente pode ser reduzido, simplificando a manipulação e o processamento, proporcionando maior pureza do produto final, eliminando pós-tratamento de águas residuais e consumindo apenas uma fração da energia normalmente necessária para um método de extração convencional, tal como a extração por *Soxhlet*, maceração ou destilação à vapor (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011).

A força motriz da EAU é cavitação acústica, processo que ocorre quando uma onda ultrassônica se propaga em um meio líquido. Durante a propagação, uma série de compressões e expansões ocorrem nas moléculas do meio e essas mudanças de pressão provocam a produção e colapso de uma série de microbolhas. Durante o colapso das bolhas, a temperatura e pressão em nível microscópico podem alcançar valores por volta de 5000 K e 50 MPa, respectivamente. Essas alterações de temperatura e pressão que ocorrem a partir das implosões causam ruptura, diluição das membranas celulares e perturbação das células, resultando numa penetração aprimorada do solvente nas células e incremento da transferência de massa dos solutos para o solvente. As implosões também geram turbulência em nível microscópico, colisões entre partículas e agitação nos microporos da matriz, acelerando a difusão. Outro efeito importante é a hidratação e intumescimento da matriz, com alargamento dos poros, o que aumenta a difusão do solvente para a matriz. Esses efeitos são vantajosos quando se utiliza uma matriz seca, que é caracterizada por poros de menor de menores dimensões em relação à matrizes úmidas (TIWARI, 2015).

Ondas ultrassônicas de alta potência geralmente são aplicadas usando dois tipos de dispositivos (Figura 6): banhos de ultrassom (A) e (B) ou sondas ultrassônicas (C) e (D). Ambos os sistemas são baseados em um transdutor como fonte de potência ultrassônica. O banho ultrassônico é o tipo mais comumente conhecido de dispositivo ultrassônico. Normalmente consiste de um tanque de aço inoxidável com um ou mais

transdutores ultrassônicos. Os banhos ultrassônicos geralmente operam a uma frequência de cerca de 40 kHz e podem ser equipados com controle de temperatura. As principais vantagens do banho ultrassônico estão relacionadas ao seu baixo custo, maior disponibilidade de modelos e ao grande número de amostras que podem ser tratadas simultaneamente. Contudo, em comparação com os sistemas de sonda, a baixa reprodutibilidade e a baixa potência fornecida diretamente à amostra são grandes inconvenientes (CHEMAT *et al.*, 2017).



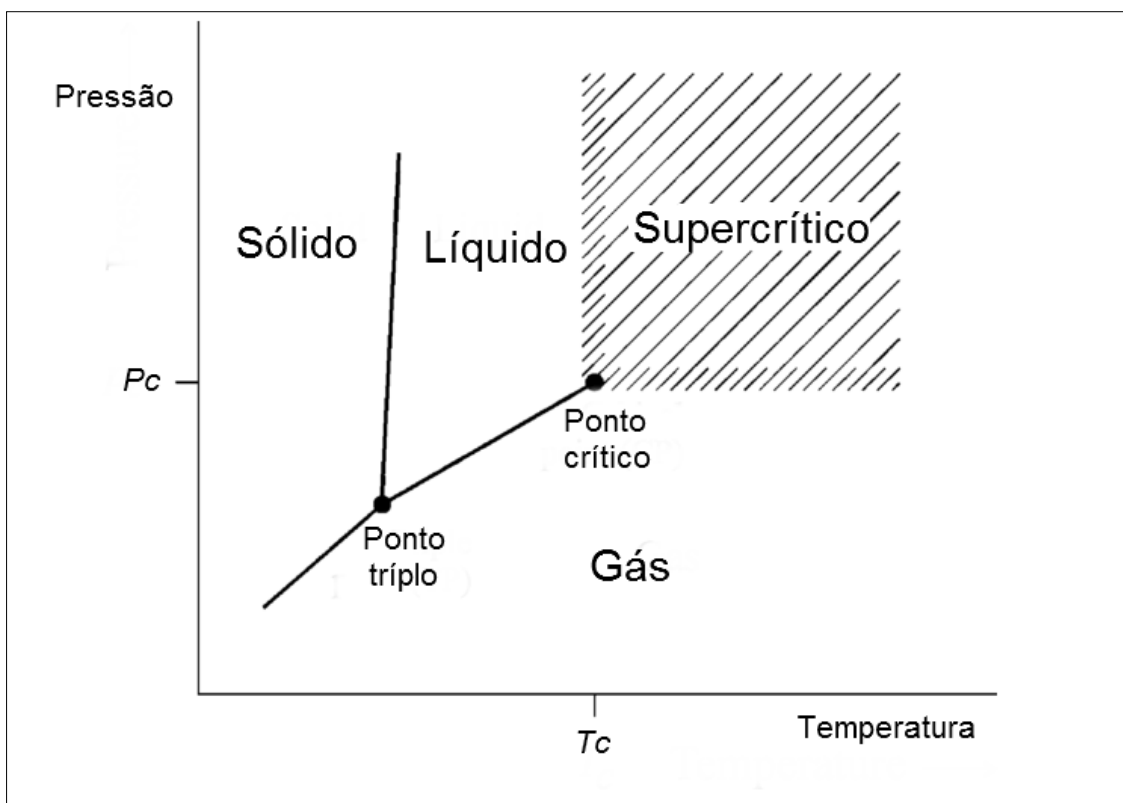
**Figura 6** - Sistemas ultrassônicos geralmente utilizados. (A) Banho ultrassônico, (B) Extrator ultrassônico com agitação, (C) Sonda ultrassônica, (D) Sistema contínuo com sonda ultrassônica.

Fonte: (CHEMAT *et al.*, 2017).

Na prática, as sondas ultrassônicas de alta potência são geralmente escolhidas. Esse tipo de equipamento é mais potente devido a uma intensidade ultrassônica fornecida através de uma superfície menor (apenas a ponta da sonda), quando comparado com o banho ultrassônico. Tais sistemas operam a uma frequência de cerca de 20 kHz e utilizam um transdutor ligado à sonda que é imersa no extrator, resultando numa distribuição direta das ondas no meio de extração com uma perda de energia ultrassônica mínima (CHEMAT *et al.*, 2017).

### **2.4.3 Extração supercrítica (ESC)**

Se um gás for comprimido a uma pressão bastante elevada a uma temperatura constante, esta operação é seguida da mudança de fase de gás para líquido. No entanto, se o gás for aquecido demasiadamente, nenhuma mudança na pressão será acompanhada de mudança de fase gasosa para líquida. A temperatura mínima onde esse fenômeno ocorre é chamada de temperatura crítica e a pressão correspondente é definida como pressão crítica. Tais valores de temperatura e pressão definem um ponto no diagrama de fases chamado de ponto crítico, que é único para uma substância pura. Quando tanto a temperatura como a pressão ultrapassam o ponto crítico, o estado da substância é chamado de fluido supercrítico (FS), um estado de agregação molecular intermediário entre líquido e gás (Figura 7) (MUKHOPADHYAY, 2000).



**Figura 7** - Diagrama pressão temperatura para uma substância pura.  
Fonte: (BRUNNER, 2005).

Os FS apresentam propriedades físicas únicas que permitem que estes sejam usados como solventes. Valores típicos são apresentados na Tabela 2.

Devido à massa específica relativamente alta destes fluidos, eles têm alto poder de solvatação. Além do mais, pequenas variações na temperatura ou pressão do sistema, resultam em variação da massa específica. Esse efeito proporciona um certo grau de seletividade para esses fluidos. Outras características importantes são a viscosidade relativamente baixa e o elevado coeficiente de difusão que permitem altas taxas de extração (MEIRELES, 2009).

**Tabela 2** - Comparação entre as propriedades físicas dos gases, líquidos e fluidos críticos.

<b>Estado do fluido</b>	<b>Massa específica (kg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>Difusividade (m<sup>2</sup>/s)</b>	<b>Viscosidade (cP)</b>
<b>Gás</b>			
$P = 103,325 \text{ kPa}; T = 288,15 - 303,15 \text{ K}$	$(0,6 \text{ a } 2,0) \times 10^{-3}$	$(0,1 \text{ a } 0,4) \times 10^{-4}$	$(6 \text{ a } 20) \times 10^{-3}$
<b>Líquido</b>			
$P = 103,325 \text{ kPa}; T = 288,15 - 303,15 \text{ K}$	600 a 1600	$(0,2 \text{ a } 2,0) \times 10^{-9}$	$(2 \text{ a } 30) \times 10^{-3}$
<b>Fluido supercrítico</b>			
$P = P_c; T \approx T_c$	200 a 500	$0,7 \times 10^{-7}$	$(10 \text{ a } 30) \times 10^{-3}$
$P = 4P_c; T \approx T_c$	400 a 900	$0,2 \times 10^{-7}$	$(30 \text{ a } 90) \times 10^{-3}$

Fonte: Adaptado de BRUNNER (2005).

Diversos solventes podem ser usados em condições supercríticas (Tabela 3), porém o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o fluido mais comumente empregado na recuperação de compostos bioativos de matrizes naturais. O CO<sub>2</sub> apresenta várias vantagens, tais como: condições críticas brandas (pressão e temperatura relativamente baixas), ser atóxico, não inflamável, não explosivo, facilmente disponível e barato. Além disso, por ser um gás a temperatura ambiente, é facilmente eliminado na etapa de descompressão, permitindo obter extratos livres de solvente (HERRERO *et al.*, 2015).

**Tabela 3** - Propriedades críticas de alguns compostos.

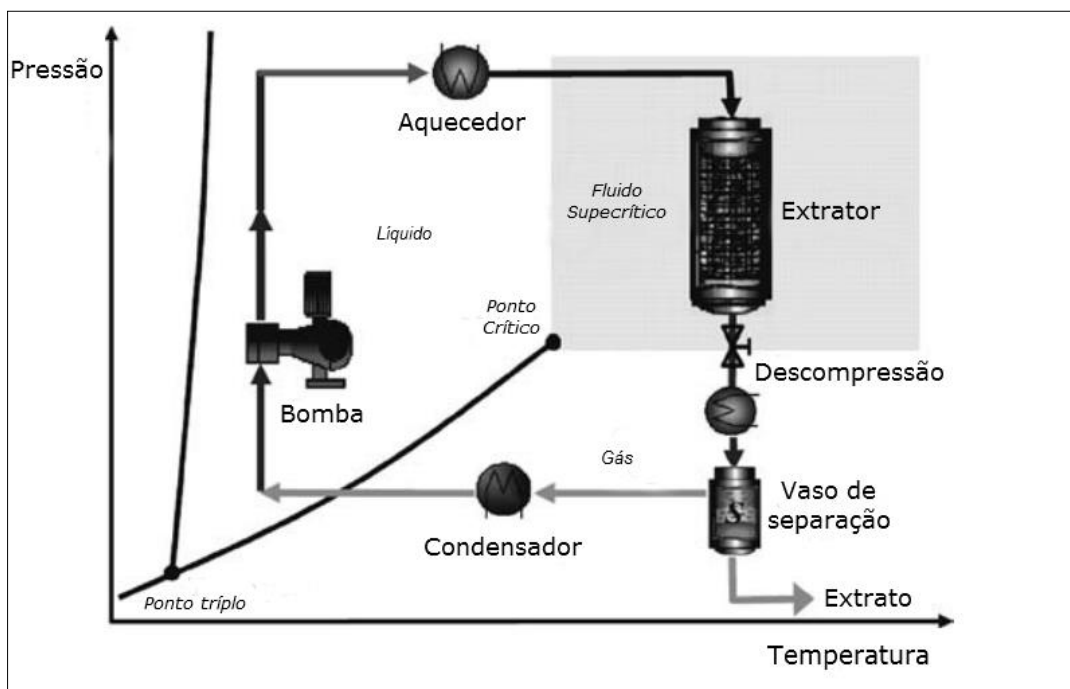
Substância	T <sub>c</sub> (K)	P <sub>c</sub> (MPa)	ρ <sub>c</sub> (kg/m <sup>3</sup> )
CHF <sub>3</sub>	299,3	4,75	528
CH <sub>4</sub>	190,5	4,19	162
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	282,3	5,11	215
C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	305,2	4,88	203
<b>CO<sub>2</sub></b>	<b>304,1</b>	<b>7,37</b>	<b>469</b>
H <sub>2</sub> O	647,1	22,12	348
CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	513,9	6,14	276
Xe	289,7	5,87	1110

Fonte: Adaptado de (KERTON, 2009).

Também importante para a extração de compostos naturais é a capacidade da extração supercrítica com CO<sub>2</sub> ser operada à baixa temperatura usando um meio não oxidante, o que permite a extração de compostos termicamente sensíveis e/ou facilmente oxidáveis (HERRERO *et al.*, 2010).

A Figura 8 mostra um diagrama esquemático do processo de ESC em estágio único. A matéria-prima que contém o soluto desejado é empacotada na coluna de extração. O solvente supercrítico entra na coluna de extração e extrai os solutos à medida que flui no sistema. Da saída da coluna de extração, a mistura solvente-soluto segue para o vaso de separação, onde geralmente a pressão é reduzida a valores abaixo do ponto crítico. Nesta etapa, a capacidade de solvatação do gás é muito baixa e o soluto precipita. O soluto então é removido do vaso de separação e o solvente é recuperado (ou despejado na atmosfera, dependendo da quantidade utilizada). De volta ao ciclo, o solvente gasoso é condensado pela diminuição da temperatura, a

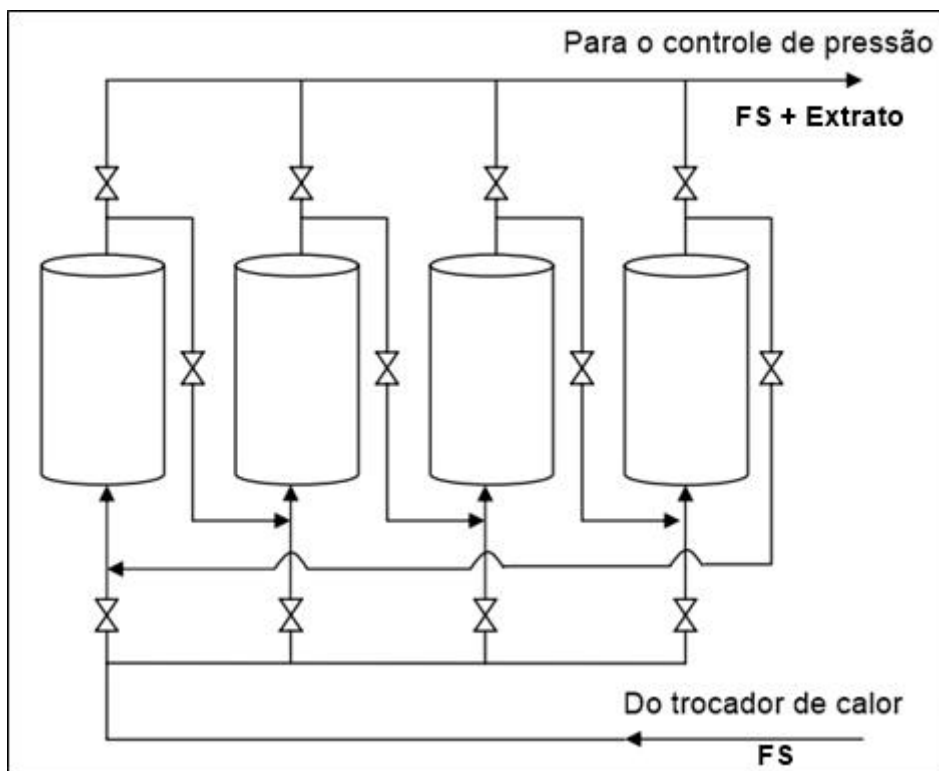
pressão é aumentada para um valor acima do ponto crítico (mas com temperatura abaixo deste ponto) por uma bomba, e é novamente transformado em fluido supercrítico à temperatura de extração pelo aquecimento em um trocador de calor (MEIRELES, 2009).



**Figura 8** - Diagrama do processo de extração supercrítica com reciclo de solvente.

Fonte: (MEIRELES, 2009).

O arranjo em estágio simples é geralmente usado em experimentos de bancada para avaliação das condições operacionais. Porém, quando se trata de plantas comerciais dificilmente se opta por este arranjo. Em processos industriais, o tempo total gasto em processo é um parâmetro crucial para garantir a eficiência do processo. Uma das maiores dificuldades é garantir a rapidez na alimentação e descarga de um processo envolvendo materiais sólidos à alta pressão. Ou seja, do ponto vista comercial, a utilização de apenas um extrator não é economicamente viável. Dessa forma, é comum a utilização de um arranjo com múltiplos extratores operando em fluxo contracorrente (MARTÍNEZ, 2008). Um exemplo deste tipo de arranjo é apresentado na Figura 9.



**Figura 9** - Esquema de processo de ESC em múltiplo estágio.  
Fonte: (MARTÍNEZ, 2008).

Nesse arranjo, após a extração completa, qualquer um dos extratores pode ser isolado do processo, despressurizado, esvaziado e reempacotado sem interferir na operação dos outros extratores. Além disso, esta disposição permite que o FS opere perto da saturação, isto é, com uma maior quantidade de soluto por quantidade de FS (MARTÍNEZ, 2008).

Embora haja um menor consumo de FS por quantidade de substrato em um arranjo em estágios múltiplos, para uma análise econômica do processo, a relação dos parâmetros operacionais e geometria dos extratores com os custos operacional e produtivo devem ser levados em conta. Uma discussão detalhada sobre os aspectos econômicos do processo foge ao escopo desta dissertação. Maiores detalhes podem ser encontrados na literatura (DEL VALLE; NÚÑEZ; ARAVENA, 2014) e (NÚÑEZ; DEL VALLE, 2014).

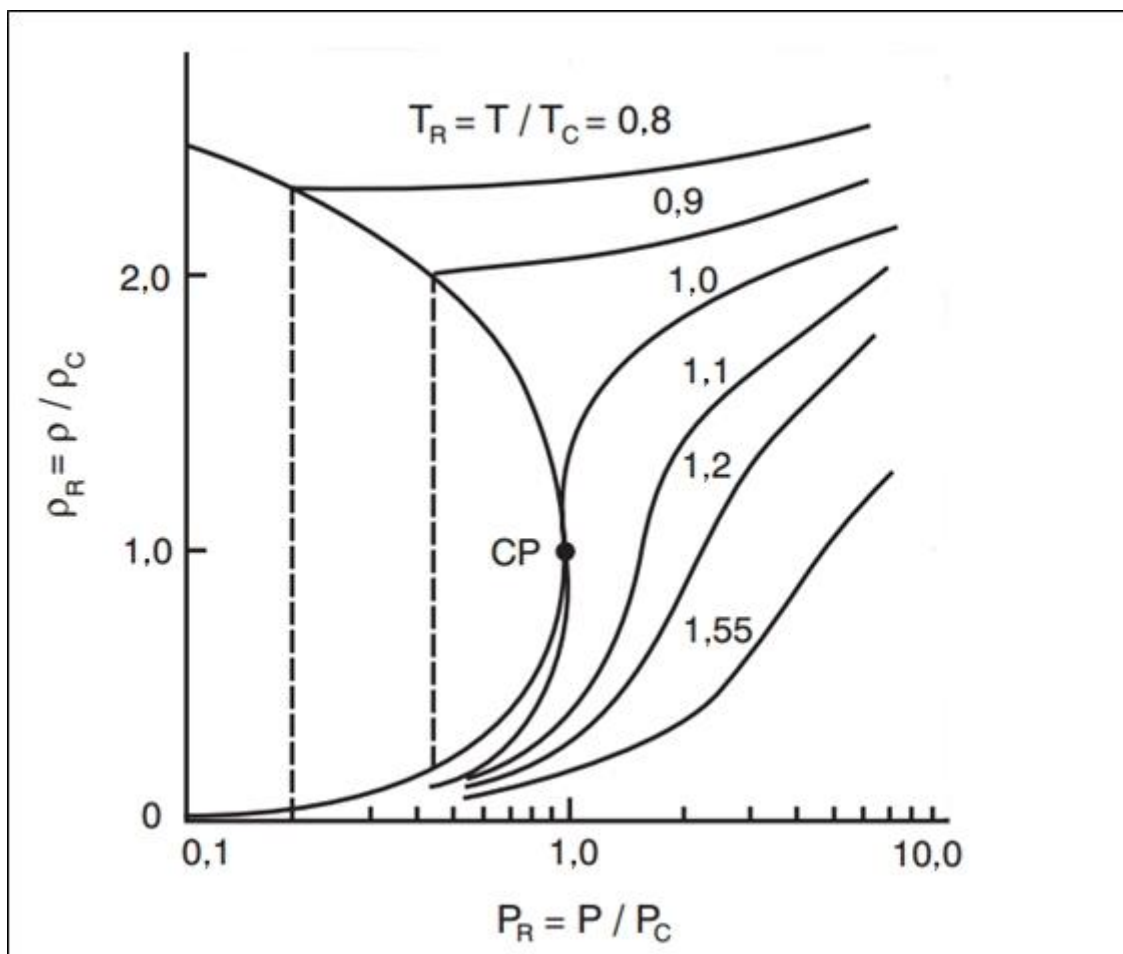


### 2.4.3.1 Efeito das condições operacionais no rendimento da extração supercrítica (ESC)

Vários fatores podem interferir no rendimento e composição dos extratos obtidos por ESC, dentre eles: morfologia e localização do soluto na matriz, tamanho médio das partículas que compõem o leito de extração, forma, porosidade e umidade do material sólido. Porém, as variáveis mais comumente estudadas são: razão solvente/sólido, temperatura e pressão.

#### 2.4.3.1.1 Efeito da pressão e temperatura

A capacidade de dissolução dos FS é dependente da massa específica e a sensível variação desta com a pressão e temperatura fornece aos FS características de solvente únicas. A Figura 10 esboça, em termos de parâmetros reduzidos como ocorre a variação da massa específica em diferentes pressões e temperaturas para um componente puro hipotético. Por exemplo, quando a temperatura reduzida ( $T_R$ ) aumenta, à pressão reduzida ( $P_R$ ) constante, a massa específica reduzida ( $\rho_R$ ) diminui. No entanto, a  $\rho_R$  do solvente aumenta quando a  $P_R$  aumenta a  $T_R$  constante (MUKHOPADHYAY, 2000). Logo, é possível concluir que em condições supercríticas à temperatura constante, um aumento na pressão é seguido de um aumento na massa específica, enquanto que um aumento na temperatura em condições isobáricas é acompanhado de uma redução na massa específica do solvente.



**Figura 10** - Variação da massa específica reduzida ( $\rho_R$ ) de um componente puro em função da pressão reduzida ( $P_R$ ) e da temperatura reduzida ( $T_R$ ).

Fonte: (MUKHOPADHYAY, 2000).

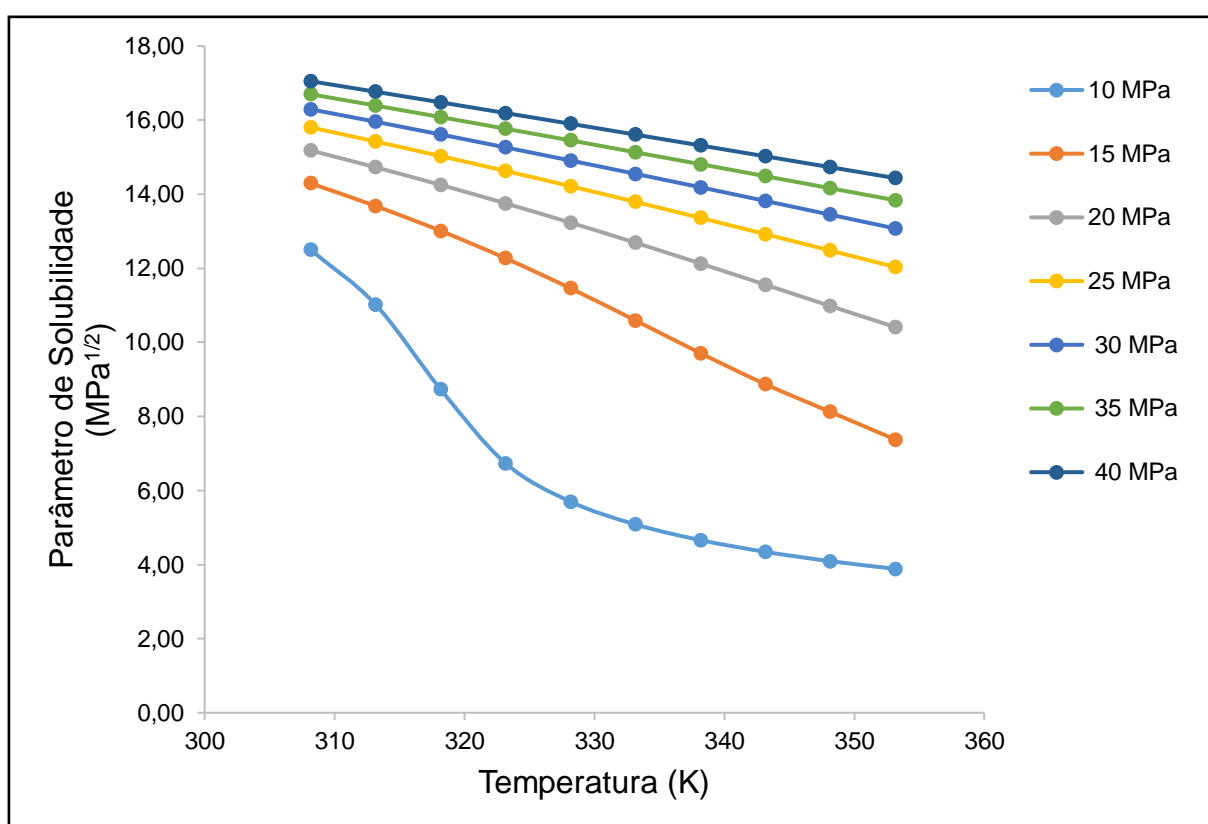
A massa específica dos FS e o poder de solvência (capacidade solvente) podem ser relacionados através do parâmetro de solubilidade de Hildebrand ( $\delta$ ). Em condições supercríticas é usada como uma primeira aproximação a correlação proposta por Giddings *et al.* (1968) (Equação 1). Esta simples equação ajuda a entender a relação entre o poder solvente e a massa específica:

$$\delta = 3,02P_c^{1/2}(\rho_R) \quad (5)$$

considerando  $\delta$  o parâmetro de solubilidade de Hildebrand em  $\text{MPa}^{1/2}$ ;  $P_c$  a pressão no ponto crítico em MPa, e  $\rho_R$  a massa específica reduzida.

Para melhor avaliação dos efeitos discutidos acima, a Figura 11 mostra a variação do parâmetro de solubilidade de Hildebrand ( $\delta$ ) em função da temperatura e

pressão. Pode-se verificar que através da escolha apropriada da pressão e temperatura do processo (ajuste da massa específica), o poder solvente do CO<sub>2</sub> em estado supercrítico pode ser ajustado. Os valores obtidos na Figura 11 são compatíveis com os valores exibidos pela Tabela 4 para alguns solventes comumente usados em processos de extração, sugerindo que o CO<sub>2</sub> em estado supercrítico tem poder solvente semelhante a alguns solventes orgânicos em condições ambientais.



**Figura 11** - Variação do parâmetro de solubilidade de Hildebrand para o CO<sub>2</sub> em função da temperatura e pressão<sup>2</sup>.

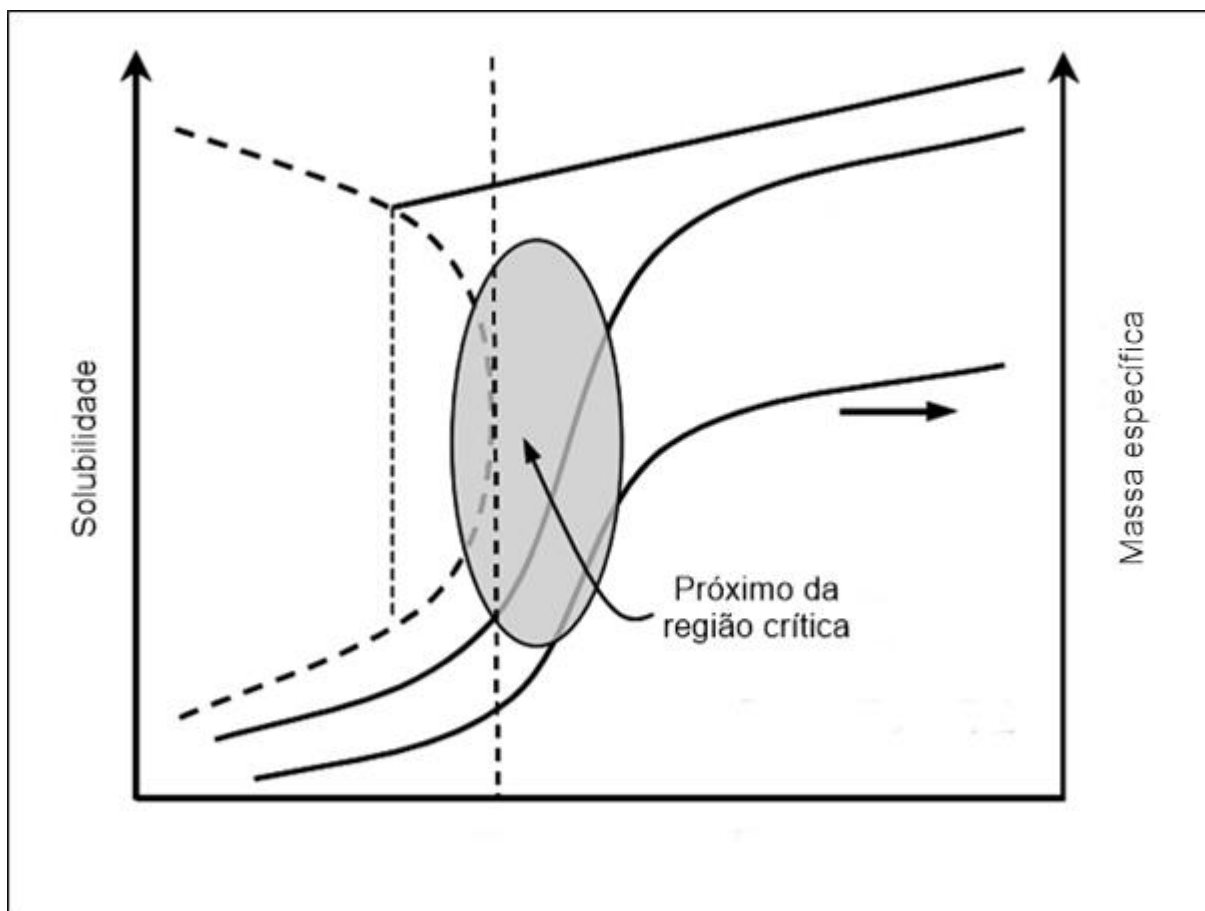
<sup>2</sup>Valores do parâmetro de solubilidade de Hildebrand foram calculados através da Equação 5, utilizando dados de massa específica e pressão crítica compilados por ANWAR; CARROLL (2015).

**Tabela 4** - Parâmetro de solubilidade Hidelbrand de alguns solventes usados em processos de extração, na pressão de 0,1 MPa.

Solvente	T (K)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> ) <sup>(1)</sup>	$\delta$ (MPa <sup>1/2</sup> ) <sup>(2)</sup>
n-Hexano	298,15	660,6	14,9
Éter etílico	293,15	713,8	15,4
Tolueno	298,15	862,3	18,3
Acetato de etila	293,15	900,3	18,2
Benzeno	293,15	876,5	18,7
Clorofórmio	298,15	1478,8	18,7
Acetona	298,15	784,5	19,7
Etanol	293,15	789,3	26,2
Metanol	293,15	791,4	29,7
Água	298,15	1000,0	48,0

Fonte: <sup>(1)</sup>(HAYNES; LIDE; BRUNO, 2014); <sup>(2)</sup>(BARTON, 1983).

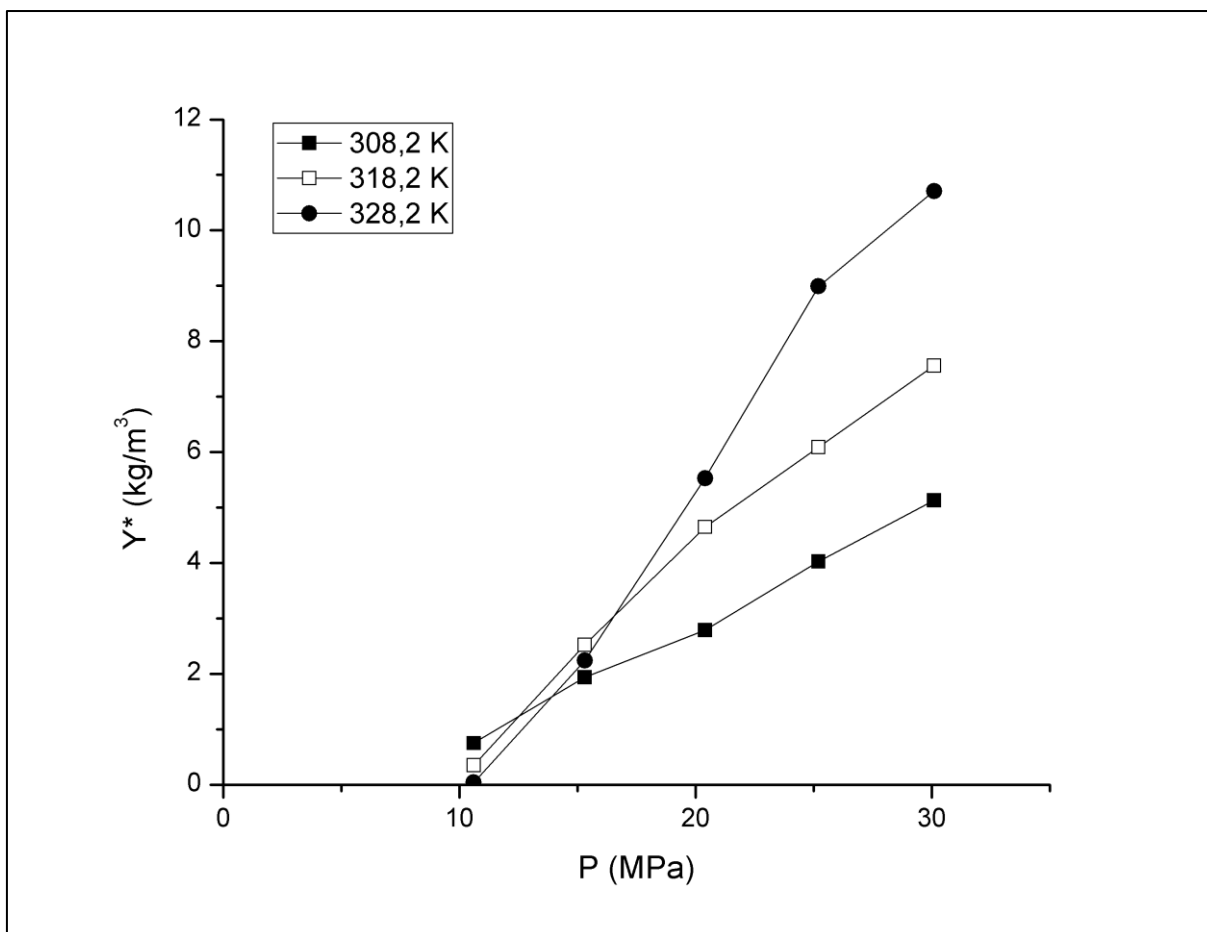
Embora haja uma diminuição do parâmetro de solubilidade e da massa específica do FS com o aumento da temperatura (a pressão constante), o mesmo não acontece com a solubilidade dos solutos. A Figura 12 mostra a tendência geral da solubilidade em função da pressão e massa específica.



**Figura 12** - Massa específica e solubilidade em função da pressão.  
 Fonte: (MARTÍNEZ, 2008).

O efeito da temperatura sobre a solubilidade é complexo devido à combinação de dois fatores. Um aumento da temperatura a pressão constante aumenta a pressão de vapor do soluto, incrementando a sua solubilidade no FS. No entanto, um aumento da temperatura a pressão constante também diminui a massa específica do solvente, causando diminuição da distância intermolecular entre as moléculas de solvente e soluto, diminuindo o poder solvente do FS (PEREIRA; MEIRELES, 2010). Tratam-se portanto de fatores antagônicos; o que se observa experimentalmente é o predomínio de um fator sobre o outro, dependendo das condições operacionais.

A Figura 13 apresenta o efeito da pressão e temperatura na solubilidade ( $Y^*$ ) do ácido all-trans-retinoico (AATR).



**Figura 13** - Dados de solubilidade do AATR em CO<sub>2</sub> supercrítico como uma função da pressão e em diferentes isotermas.

Fonte: (ROSA *et al.*, 2015).

Observando-se a Figura 13 é possível verificar que há uma mudança na tendência da solubilidade em torno de aproximadamente 12-13 MPa, o que reflete a predominância do efeito da temperatura na solubilidade do soluto. Abaixo da região de transição o efeito da massa específica do solvente (poder solvente) é dominante, uma vez que o soluto é mais solúvel à baixa temperatura e a solubilidade diminui à medida que aumenta-se a temperatura. No entanto, acima da região de transição, o efeito da temperatura na pressão de vapor do soluto prevalece sobre a massa específica do solvente e a solubilidade aumenta com a temperatura (ROSA *et al.*, 2015).

Este fenômeno é denominado inversão das isotermas de solubilidade e já foi reportado por diversos autores para vários sistemas (ASIABI *et al.*, 2015; HEZAVE;

MOWLA; ESMAEILZADEH, 2011; JOKIĆ *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2014; TABERNERO *et al.*, 2014; TAMURA; ALWI, 2015; TSAI; LIN; LEE, 2014; TELLO; VIGUERA; CALVO, 2011).

#### *2.4.3.1.2 Efeito da razão solvente/sólido*

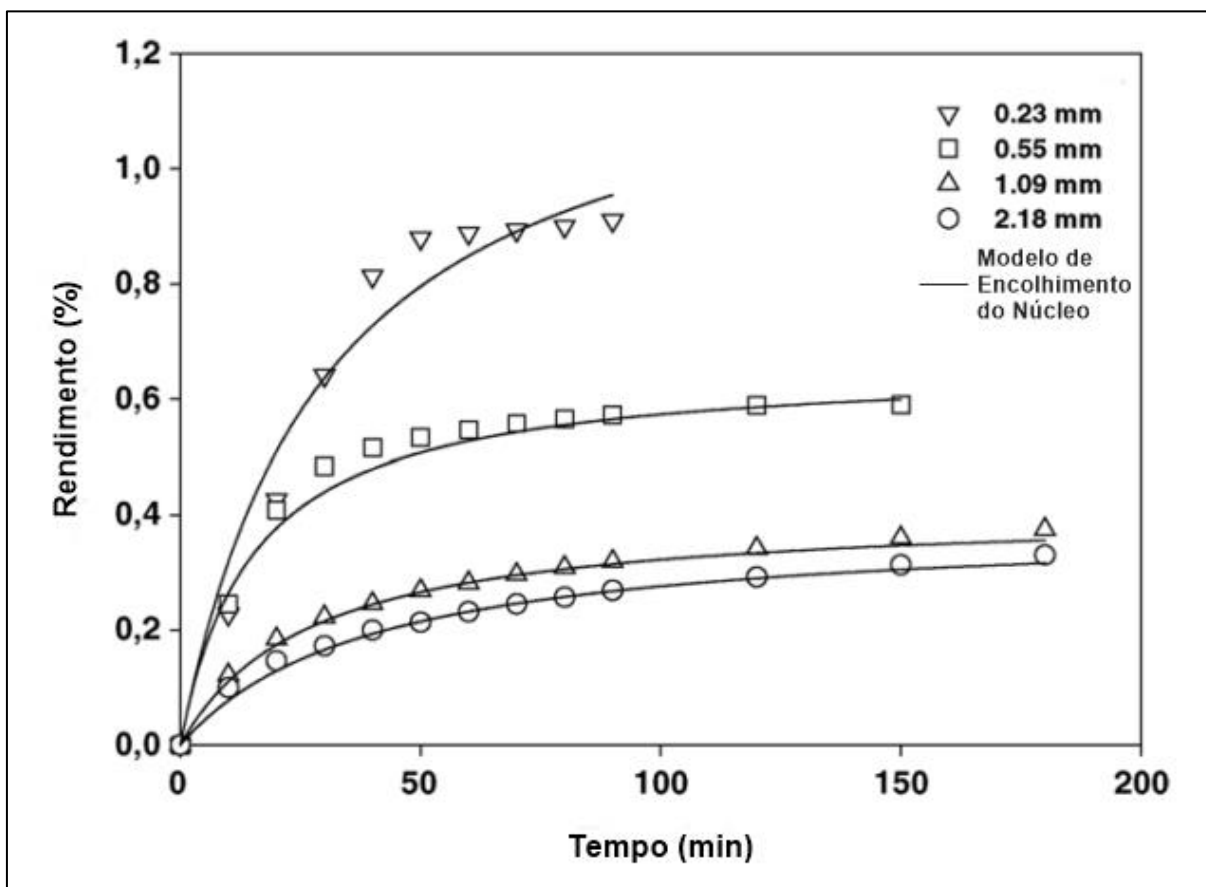
Ao passo que pressão e temperatura afetam propriedades termodinâmicas (massa específica e solubilidade) e de transporte (viscosidade e difusividade), a razão solvente/sólido (em outras palavras, vazão do solvente) é uma variável que influencia diretamente a dispersão axial, o coeficiente de transferência de massa por convecção e o acúmulo de soluto no volume de solvente. Uma razão alta de solvente/sólido (alta vazão de solvente) aumenta a capacidade de extração devido à diminuição da resistência externa associada ao filme de solvente que recobre as partículas do leite, porém gastos com solvente aumentam (MELO; SILVESTRE; SILVA, 2014; PEREIRA; MEIRELES, 2010).

A vazão de solvente deve ser suficiente para proporcionar uma extração com alto rendimento em um curto tempo de processo, mas também deve proporcionar tempo de contato suficiente entre o solvente e o soluto. Além disso, deve ser considerado que uma maior taxa de fluxo de solvente promove uma elevação dos custos operacionais e de capital, que devem ser cuidadosamente estudados para aplicações industriais (ROSTAGNO; PRADO, 2013).

#### *2.4.3.1.3 Efeito do tamanho das partículas*

O tamanho das partículas que compõem o leite fixo de extração tem impacto significativo sobre o comportamento do escoamento do FS na matriz da amostra. O tamanho das partículas, sua forma e a sua disposição aleatória (distribuição de tamanho) determinam o que flui através do leite e com que rapidez o faz. A disposição do leite é influenciada pelo tipo de poro e seu grau de interligação (SHI, 2016).

A Figura 14 mostra o efeito do tamanho das partículas sobre o rendimento de extração do óleo de girassol.



**Figura 14** - Efeito do tamanho das partículas no rendimento de extração de óleo de girassol por FS ( $\text{CO}_2$ ).

Fonte: (SALGIN; DÖKER; ÇALIMLI, 2006).

Geralmente, a taxa de extração e o rendimento aumentam com a diminuição do tamanho das partículas do leito devido à maior exposição e disponibilidade do soluto em relação ao solvente. Embora seja possível concluir através de estudos de escala laboratorial que um menor tamanho de partícula seja mais adequado, este comportamento não necessariamente pode ser usado em escala industrial, visto que outros fatores influenciam o processo em escala industrial. Por causa da moagem excessiva pode ocorrer perda de compostos de interesse por volatilização e/ou degradação. Além disso, partículas muito finas podem limitar a performance de leitos



fixos, devido à formação de caminhos preferenciais e zonas mortas, e à compactação (MEIRELES, 2009).

#### 2.4.3.2 Modelagem cinética do processo de ESC

O andamento do processo de ESC pode ser avaliado através da representação gráfica de algumas variáveis em função do tempo de extração (ou consumo de solvente). As variáveis comumente utilizadas são: massa acumulada de extrato, taxa de extração, quantidade restante de extrato no sólido e concentração do extrato no FS na saída do extrator. A variável massa acumulada de extrato ( $m_E$ ) é mais utilizada. Essa curva em especial é denominada curva global de extração (CGE) (CHEMAT; VIAN, 2014).

A maioria dos modelos cinéticos usados para representar a CGE citados na literatura são classificados em três tipos: modelos empíricos, modelos baseados em balanços diferenciais de massa e modelos baseados em analogias com transferência de calor (MELO; SILVESTRE; SILVA, 2014).

O primeiro grupo de modelos considera o extrator como uma “caixa preta”, uma vez que o comportamento é descrito por um ou mais parâmetros que são obtidos através do ajuste de curvas aos dados experimentais. Este tipo de modelo não requer qualquer informação sobre a matriz vegetal e especificação do tipo de solvente. Portanto, sua única vantagem é sua simplicidade e capacidade de descrever a evolução do processo de extração. Uma vez que os parâmetros correspondentes não têm nenhum significado físico, não são adequados para estudos de aumento de escala (GROSSO *et al.*, 2010).

Os modelos baseados em analogias de transferência de calor assumem que a partícula vegetal é uma esfera e, as equações utilizadas para descrever o resfriamento de uma esfera, num meio uniforme, são aplicadas para descrever o perfil de concentração no interior das partículas. No entanto, a extrapolação da concentração para um leito fixo de partículas é superestimada (GROSSO *et al.*, 2010).

Por outro lado, os modelos baseados em equações de balanço de massa permitem descrever aspectos importantes do processo: o equilíbrio de fases, as resistências à transferência de massa, o padrão de escoamento e os perfis de concentração ao longo do extrator (SOVOVÁ, 2012). Esses modelos são obtidos através da solução das equações de balanço de massa para fase fluida (Equação 6) e sólida (Equação 7), além da definição do termo interfacial de transferência de massa  $J(X,Y)$ . A definição do mecanismo do termo interfacial de transferência de massa, juntamente com algumas suposições simplificadoras, são os fatores que diferenciam os diversos modelos baseados em balanço material reportados pela literatura (MEIRELES, 2009).

Fase fluida: [Acúmulo] + [Convecção] = [Dispersão] + [Transferência de massa interfacial]

$$\frac{\partial Y}{\partial t} + v \frac{\partial Y}{\partial z} = \frac{\partial}{\partial z} \left( D_{aY} \frac{\partial Y}{\partial z} \right) + \frac{J(X,Y)}{\varepsilon} \quad (6)$$

Fase sólida: [Acúmulo] = [Difusão] + [Transferência de massa interfacial]

$$\frac{\partial X}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left( D_{aX} \frac{\partial Y}{\partial z} \right) + \frac{J(X,Y)}{(1-\varepsilon)} \frac{\rho}{\rho_s} \quad (7)$$

Com  $Y$  representando a razão mássica de soluto na fase supercrítica (kg/kg);  $X$ , a razão mássica de soluto na fase sólida (kg/kg);  $t$ , o tempo (s);  $D_{aY}$ , o coeficiente de dispersão axial ( $m^2/s$ );  $D_{aX}$ , o coeficiente de difusão ( $m^2/s$ );  $v$ , a velocidade intersticial do FS (m/s);  $\rho$ , a massa específica do fluido ( $kg/m^3$ );  $\rho_s$ , a massa específica do sólido ( $kg/m^3$ );  $\varepsilon$ , a porosidade do leito e  $J(X,Y)$ , o termo interfacial de transferência de massa ( $s^{-1}$ ).

#### 2.4.3.2.1 Modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999)

Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) propuseram um modelo empírico baseado no ajuste das curvas experimentais, utilizando como modelo de regressão uma equação similar à isoterma de Langmuir (Equação 8).

$$m_E = x_0 F \left( \frac{t}{b_1 + t} \right) \quad (8)$$

Com  $m_E$  representando a massa de extrato em função do tempo (kg);  $t$ , o tempo de extração (min);  $x_0$ , a razão mássica de soluto extraível (kg/kg),  $F$ , a massa de sólido empacotada no extrator e  $b_1$  sendo o parâmetro ajustável (min).

Dentre as aplicações do modelo apresentadas na literatura, é possível citar o trabalho de Jesus, Grimaldi e Hense (2010) na descrição cinética do processo de recuperação de orizanol oriundo de resíduo da produção de óleo de farelo de arroz a 20 MPa/303 K. Comim *et al.* (2010) também utilizaram esse modelo na avaliação das CGEs de casca de banana.

#### 2.4.3.2.2 Modelo de Crank (1975)

É um modelo baseado numa analogia entre transferência de massa e calor, utilizando a segunda lei de difusão de Fick. Neste tratamento, uma partícula do material vegetal é considerada como uma esfera quente sendo resfriada em um meio uniforme. Além disso, assume-se que os componentes a serem extraídos estão distribuídos uniformemente dentro da partícula. A solução analítica pode ser obtida através da transformada de Fourier, obtendo-se a Equação 9 (CRANK, 1975):

$$m_E = \left( 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{-n^2 \pi^2 D_{ap} t}{r^2} \right) x_0 m_t \quad (9)$$

com  $m_E$  representando a massa de extrato (kg),  $x_0$ , a razão mássica inicial de soluto na fase sólida (kg/kg);  $t$ , o tempo (min);  $D_{ap}$ , o coeficiente de difusão aparente ( $m^2/min$ );  $r$ , o raio da partícula sólida (m) e  $n$ , um número inteiro.

Cavalcanti, Albuquerque e Meireles (2016) utilizaram esse modelo para investigar a cinética de ESC de manteiga de cupuaçu. Já Reis *et al.* (2016) aplicaram esse mesmo modelo aos resultados experimentais da ESC de semente de tamarindo doce a 25 MPa e 323,15 K.

#### 2.4.3.2.3 Modelo de Martínez *et al.* (2003)

O modelo desenvolvido por Martínez *et al.* (2003) é um modelo baseado em balanço de massa, onde assumiu-se que o termo interfacial de transferência de massa  $J(Y,X)$  segue um modelo logístico. Além do mais, os termos de acúmulo de massa e dispersão axial são desprezados, pois a contribuição desses fenômenos é baixa em relação ao termo de convecção.

A solução final do balanço proposto é dada pela Equação (10):

$$m_E = \frac{x_0 F}{\exp(bt_m)} \left\{ \frac{1 + \exp(bt_m)}{1 + \exp[b(t_m - t)]} - 1 \right\} \quad (10)$$

com  $t$  o tempo (s);  $m_E$  massa de extrato (kg),  $x_0$ , a razão mássica inicial de soluto na fase sólida (kg/kg),  $F$  massa de sólido empacotado no extrator (kg) e  $b$  e  $t_m$  são parâmetros ajustáveis do modelo ( $\text{min}^{-1}$  e  $\text{min}$ , respectivamente).

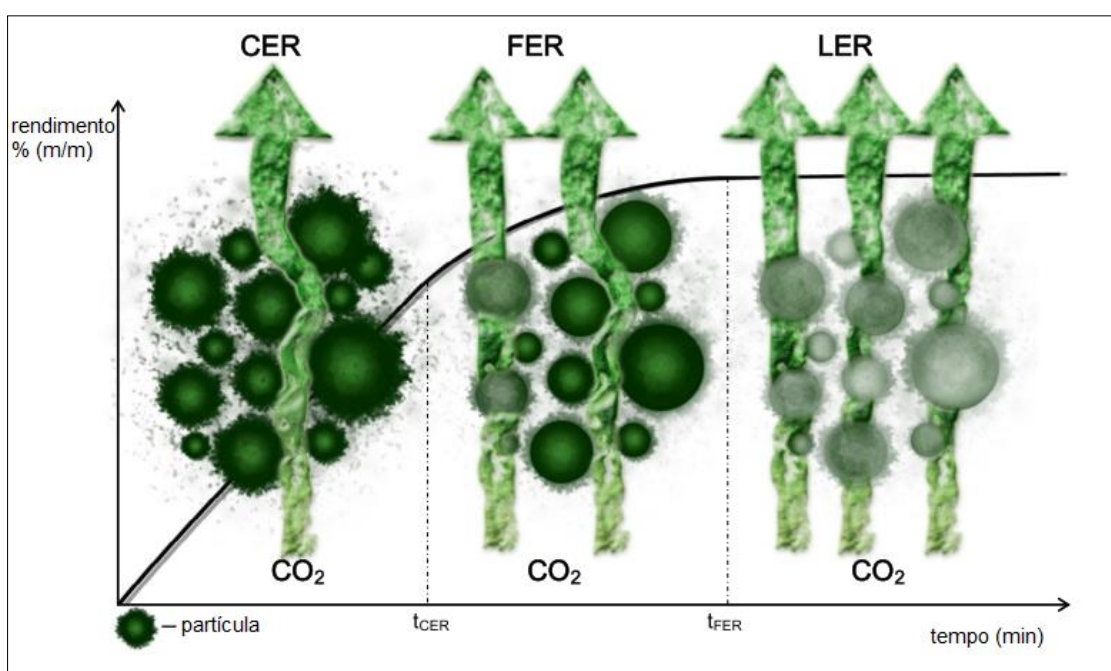
O modelo de Martínez (2003) tem sido usado para modelar a CGE de alguns processos ESC. Galvão *et al.* (2013) aplicaram esse modelo para avaliar a cinética de extração de óleo de linhaça a 25 MPa e 323 K. Já Botelho *et al.* (2015) aplicaram esse modelo à ESC de óleo de copaíba a 333 K/20 MPa and 333 K /30 MPa. Dentro os modelos avaliados, esse modelo foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais.

#### 2.4.3.2.4 Modelo de Sovová (1994)

O modelo de Sovová (1994) é um modelo matemático baseado em balanço diferencial de massa. Esse modelo divide o soluto em dois tipos: fácil acesso e de difícil acesso. A fração de soluto de fácil acesso é removida primeiramente da matriz vegetal basicamente pelo mecanismo de convecção. Isso é observado visualmente na CGE apresentada na Figura 15 e constitui a região nomeada de taxa constante de extração (CER - *Constant Extraction Rate*).

À medida que o processo de extração segue, em alguns pontos na superfície das partículas o soluto de fácil acesso já foi esgotado e uma diminuição lenta na taxa

de extração é observada. Neste ponto, tanto convecção como difusão são importantes para a transferência de massa no sistema. Esta região é chamada taxa decrescente de extração (FER - *Falling Extraction Rate*). Nessa região o soluto de difícil acesso começa a ser extraído. O último trecho da CEG é denominado de período de baixa taxa de extração (LER - *Low Extraction Rate*); nessa etapa a camada externa de soluto praticamente desaparece e a transferência de massa ocorre basicamente por difusão (SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).



**Figura 15** - Diagrama do processo de ESC em leito fixo, considerando as três etapas de extração.

Fonte: (SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

As equações que descrevem a cinética de transferência de massa em cada período são apresentadas pelas equações

$$m_E = QtY^*[1 - \exp(-Z_1)] \quad \text{para } t \leq t_{CER} \quad (11)$$

$$m_E = QY^*[t - t_{CER}\exp(Z_w - Z_1)] \quad \text{para } t_{CER} \leq t \leq t_{FER} \quad (12)$$

$$m_E = m_{SI} \left\{ x_0 - \frac{Y^*}{W} \ln \left[ 1 + \left[ \exp\left(\frac{Wx_0}{Y^*}\right) - 1 \right] \exp\left[\frac{WQ_{CO_2}}{M_{SI}}(t_{cer} - t)\right] \right]^{\frac{x_k}{x_0}} \right\} \quad \text{para } t > t_{FER} \quad (13)$$

Onde,

$$Z_1 = \frac{m_{SI}K_y a \rho}{Q(1-\varepsilon)\rho_s} \quad (14)$$

$$W = \frac{m_{SI}K_x a}{Q(1-\varepsilon)} \quad (15)$$

$$Z_W = \frac{Z_1 Y^*}{W x_0} \ln \left\{ \frac{x_0 \exp \left[ \frac{WQ}{m_{SI}} (t_{CER} - t) \right] - x_k}{x_0 - x_k} \right\} \quad (16)$$

Com  $t$  representando o tempo (s);  $m_{SI}$ , a massa de sólido inerte (kg);  $x_0$ , a razão mássica inicial de soluto na fase sólida (kg/kg);  $x_k$ , a razão mássica de soluto de difícil acesso na fase sólida (kg/kg);  $x_p$ , a razão mássica de soluto de fácil acesso na fase sólida (kg/kg);  $Y^*$ , a solubilidade do soluto no solvente (kg/kg);  $Q_{CO_2}$ , a vazão de solvente ( $CO_2$ ) (kg/h);  $\rho$ , a massa específica do solvente ( $kg/m^3$ );  $\rho_s$ , a massa específica da partícula sólida ( $kg/m^3$ ) e  $\varepsilon$ , a porosidade do leito.

Para o uso do modelo de Sovová (1994) são necessários alguns parâmetros de entrada, tais como:  $M_{CER}$ , taxa de extração na etapa CER (kg/min);  $Y_{CER}$ , razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída do extrator na etapa CER ( $kg_{extrato}/kg_{CO_2}$ );  $t_{CER}$ , duração da etapa CER (min). O parâmetro  $M_{CER}$  é o valor da tangente obtido no período CER e, a partir dele, obtém-se o valor de  $Y_{CER}$  usando-se a Equação 13. Os parâmetros  $k_{xa}$  e  $k_{ya}$  são, respectivamente, os coeficientes de transferência de massa na fase sólida e na fase fluida ( $min^{-1}$ ), que são definidos pelas Equações 18 - 22 (CAMPOS *et al.*, 2005):

$$Y_{CER} = \frac{M_{CER}}{Q_{CO_2}} \quad (17)$$

$$k_y a = \frac{M_{CER}}{\rho_{CO_2} S H \Delta \bar{Y}} \quad (18)$$

$$k_x a = \frac{k_y a \rho_{CO_2} \Delta \bar{Y}}{\rho_s \Delta X} \quad (19)$$

$$\Delta X = \frac{x_p + x_k}{2} \quad (20)$$

$$x_0 = x_p + x_k \quad (21)$$

$$\overline{\Delta Y} = \frac{Y_{CER}}{\ln\left(\frac{Y^*}{Y^* - Y_{CER}}\right)} \quad (22)$$

O modelo de Sovová (1994) é um dos modelos mais aplicados na ESC de produtos naturais. Vários trabalhos podem ser encontrados na literatura (BARRALES; REZENDE; MARTÍNEZ, 2015; CITADIN *et al.*, 2016; DIAS *et al.*, 2016; FERNÁNDEZ-PONCE *et al.*, 2016; GARCEZ *et al.*, 2017; RAI; MOHANTY; BHARGAVA, 2016); SANTOS *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2016; TAHER *et al.*, 2014; ÖZKAL; YENER, 2016). Dentre esses, vale a pena citar o trabalho de Silva e Martínez (2014). Esses autores observaram que o modelo Sovová (1994) se ajustou muito bem aos dados experimentais de oleoresina de pimenta vermelha, utilizando vários diâmetros de partículas e volumes de leite.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Os frutos do umbuzeiro foram obtidos de uma propriedade privada localizada no município de Alagoinha – PE, localizado a 228 km de Recife, durante o mês de Março de 2016. Os frutos foram coletados maduros, lavados com água corrente, despulpados manualmente e separados das sementes. As sementes (Figura 16) foram secas em estufa (LUCCA, modelo 82/480) com circulação de ar a 313 K por 120 h e acondicionadas em potes de polietileno a 298 K.



**Figura 16** - (A) Sementes de umbu despulpada.  
(B) Sementes de umbu seca.



### 3.2 PRÉ-TRATAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA

As sementes foram trituradas em moinho de facas tipo Willye (modelo TE-680, TECNAL). Foram obtidas duas frações do material submetido à moagem: uma fração mais fina que foi moída e não retida em peneira de 10 mesh e uma segunda fração mais grosseira que não pôde ser moída completamente devido à extrema dureza das sementes. As duas frações são mostradas na Figura 17.

As duas frações foram submetidas à extração por Soxhlet usando n-hexano e etanol, porém apenas para a fração mais fina foi possível obter extratos em quantidade suficiente para os experimentos subsequentes.



**Figura 17** - Frações das sementes de umbu: (A) Fração grosseira; (B) Fração fina.

### 3.3 TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS

O teor de umidade foi determinado utilizando a metodologia padrão da AOAC 925.09 (AOAC, 2005). Este método baseia-se na determinação da umidade através do monitoramento da perda de água e voláteis das amostras por dessecação.

Para este fim, foram pesadas amostras de 5 g em cadinhos de porcelana e em seguida estas foram submetidas à secagem em estufa a 378 K durante 3h. A seguir as amostras foram depositadas em dessecador onde se aguardou o resfriamento das mesmas. Após este procedimento as amostras foram pesadas e o procedimento se repetiu até atingir massa constante. O teor de umidade e substâncias voláteis foi calculado através da Equação (23).

$$\text{teor de umidade e voláteis (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \quad (23)$$

Considerando  $m_i$  a massa inicial de matéria-prima e  $m_f$  a massa final de matéria-prima após secagem em estufa.

### 3.4 DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA REAL DAS PARTÍCULAS

A determinação da massa específica das partículas foi realizada utilizando picnometria com gás hélio (AccuPyc II1340, Micromeritics).

### 3.5 DETERMINAÇÃO DA MASSA ESPECÍFICA APARENTE DO LEITO DE PARTÍCULAS, DO DIÂMETRO MÉDIO E DA POROSIDADE DO LEITO FIXO

A massa específica aparente do leito foi calculada através da Equação (24):

$$\rho_a = \frac{m_{alim}}{V_{leito}} \quad (24)$$

com  $m_{alim}$  representando a massa de matéria-prima empacotada do extrator e  $V_{leito}$ , o volume do leito de partículas. A porosidade do leito foi determinada usando a Equação (25):

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (25)$$

com  $\varepsilon$  representando a porosidade do leito,  $\rho_a$  a massa específica aparente do leito e  $\rho_r$  a massa específica real das partículas que compõem o leito de extração.

O diâmetro médio das partículas foi determinado por meio de microscopia eletrônica de varredura (Modelo SS-550S, SHIMADZU). Os diâmetros foram estimados utilizando o *software* ImageJ 1.6.0, realizando a aproximação da geometria das partículas à de um paralelogramo e assumindo a equivalência da área da seção transversal deste à área de uma esfera. Nesta análise foram consideradas as 20 partículas mais segmentadas.

### 3.7 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS TOTAIS

Os extratos totais foram obtidos por diferentes técnicas de extração, tanto à baixa quanto a altas pressões. A eficiência na extração foi expressa em termos de rendimento percentual RND %, de acordo com a Equação 26. Os ensaios foram realizados em duplicata e os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

$$RND (\%) = \frac{m_{extrato}}{m_{alimentada}} \times 100 \quad (26)$$

Com RND % representando o rendimento percentual,  $m_{extrato}$  a massa de extrato obtida após o processo extrativo e  $m_{alimentada}$  a massa inicial de matéria-prima submetida ao processo de extração.

#### 3.7.1 Extração por Soxhlet

Para cada condição experimental, cerca de 25 g da matéria-prima foram depositados em cartuchos individuais de celulose e em seguida inseridas no extrator. Foram utilizados 150 mL do solvente selecionado, obedecendo uma razão sólido/solvente de 1:6 (m/v). As extrações foram conduzidas durante 4h a 369 K utilizando os solventes etanol e n-hexano.

Após o processo de extração, o solvente foi removido com o auxílio de um evaporador rotativo (Modelo 801, FISATOM) a 313 K e pressão de vácuo de 700 mmHg.

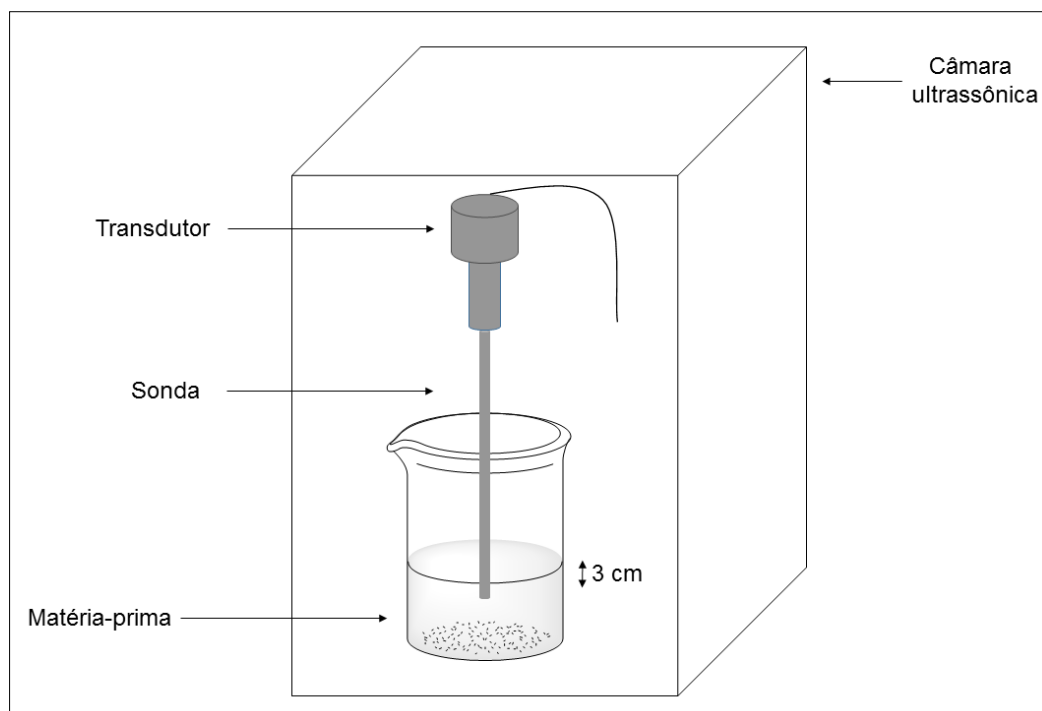
### 3.7.2 Extração assistida por Ultrassom

A Figura 18 apresenta o equipamento utilizado para esse ensaio. A extração foi realizada a temperatura ambiente (298 K), sem controle de temperatura e por 4 minutos utilizado uma sonda ultrassônica (Ultronique, QR500, Eco-Sonics). O processo foi realizado com potência de 500 W (RMS), frequência ultrassônica de 20 kHz e razão sólido/solvente de 1:30 (m/v). A ponta da sonda ultrassônica foi ajustada de forma que ficasse imersa 3 cm na mistura solvente/sólido.

Em um béquer foram adicionados cerca de 5 g de sólido. Em seguida, foram adicionados 150 mL do solvente selecionado. Logo após esta etapa, o béquer contendo a mistura sólido/solvente foi inserido na câmara ultrassônica (Figura 18) para o início da extração. Foram usados os seguintes solventes:

- n-hexano;
- etanol;
- solução etanol/água 70:30 (v/v), solução muito usada para extração de fenólicos.

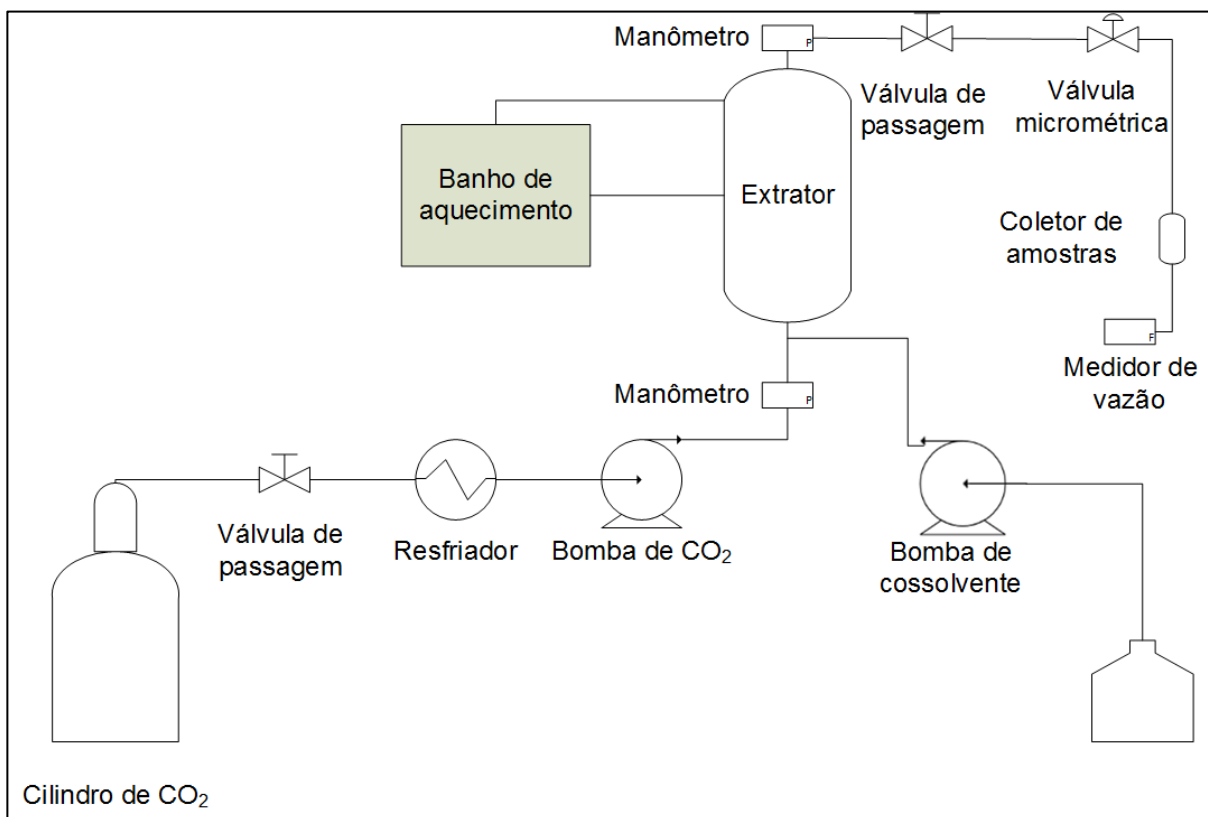
Após o processo extrativo, o meio foi submetido a filtração a vácuo com papel de filtro e, em seguida, o solvente foi removido com auxílio de um evaporador rotativo (Modelo 801, FISATOM) a 313 K e pressão de vácuo de 700 mmHg.



**Figura 18** - Sistema de extração ultrassônica utilizado nos experimentos.

### 3.7.3 Extração Supercrítica

Os ensaios de ESC foram realizados na unidade de extração esquematizada na Figura 19. Esta é composta por uma coluna de extração encamisada, três banhos ultratermostáticos (DC30-B30 Thermo Haake; C10-K10, Thermo Haake; MQBTZ99-20, Microquímica), um cilindro de CO<sub>2</sub> (pureza 99,9 %, White Martins), dois manômetros, bomba pneumática de alta pressão (Maximator M111), válvula de passagem e duas válvulas de controle na saída da linha, uma para ajuste micrométrico (HIP, 10-11 NFA-V) e outra para ajuste macrométrico (HIP, 10-11 NFA). Ao final da linha tem-se um coletor de amostras ligado a um medidor de vazão (10A61ABB, Automation Products). Essa planta pode operar até 30 MPa e vazões de 1,67 g/min a 36,67 g/min.



**Figura 19** - Esquema simplificado da unidade de extração supercrítica.

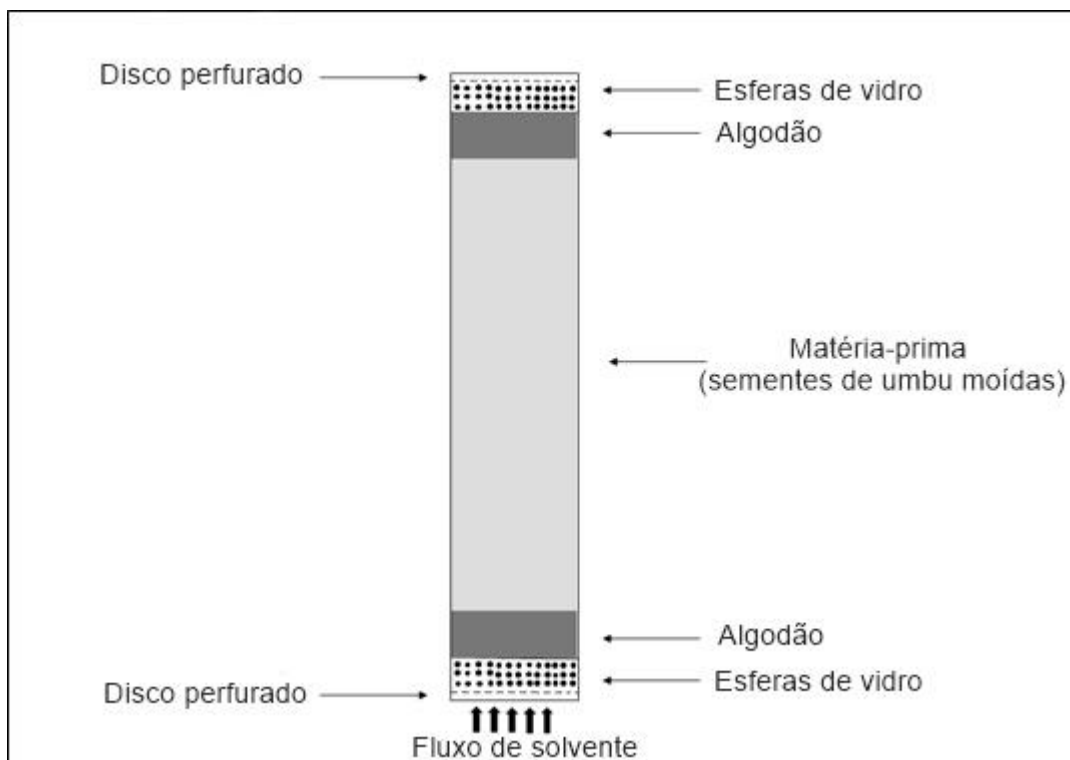
Após a abertura da válvula de passagem na saída do cilindro, o solvente (CO<sub>2</sub>) é resfriado pela passagem contínua em uma serpentina imersa no banho ultratermostático (C10-K10, Thermo Haake), contendo uma solução de etilenoglicol 50 % (m/m) a 265 K, a fim de assegurar que o mesmo se encontre no estado líquido. Em seguida, o solvente é pressurizado pela bomba e segue para a entrada do extrator, onde extrai os solutos à medida que escoar através do leito. O extrator consiste em um cilindro de aço inox encamisado com 32,9 cm de comprimento, 2,042 cm de diâmetro interno e volume de 107,74 mL, com extremidades rosqueáveis. O extrator é mantido na temperatura escolhida através de uma camisa externa, onde flui continuamente água aquecida provinda de um banho termostático de aquecimento (DC30-B30, Thermo Haake). O controle da vazão do solvente é realizado de forma manual, pelo ajuste das válvulas macro e micrométricas, e levando-se em conta os valores apresentados visualmente no rotâmetro (10A61ABB, Automation Products). Além disso, parte da tubulação na saída da coluna e as válvulas de controle são imersas

em um banho com água a 338 K, para evitar o seu congelamento durante a despressurização do sistema.

Foram realizados dois tipos de experimentos: (1) obtenção dos extratos totais e (2) ensaio cinético. Os ensaios visando a obtenção dos extratos totais foram realizados a 313 K, vazão de 0,7 kg/h e nas pressões de 15, 20 e 30 MPa. Porém, inicialmente procedeu-se um ensaio cinético a 20 MPa com o intuito de se determinar o tempo ideal de extração para obtenção dos extratos totais. A partir da determinação do tempo ideal do processo, seguiu-se com os ensaios para obtenção dos extratos totais. Nesse ensaio 25 g de semente de umbu foram empacotados no extrator, o restante do volume do leito foi preenchido com esferas de vidro separadas da matéria-prima pela adição de algodão, evitando sua mistura e mantendo constante a altura do leito durante a extração. Essa massa de sólido foi escolhida para produzir uma altura de leito que seja muito maior que raio do extrator, evitando assim os efeitos deletérios da dispersão radial.

Além disso, também foi realizado um ensaio com adição de cossolvente a 5 % (m/m) em relação a massa de CO<sub>2</sub>, utilizando a melhor condição de extração. O solvente utilizado foi uma solução aquosa de etanol a 70 % (v/v).

Os experimentos foram realizados utilizando o método dinâmico de extração, ou seja, onde há a passagem contínua do solvente através do leito. O leito foi preparado empacotando-se a matéria-prima na coluna de extração seguindo o esquema apresentado na Figura 20. As amostras foram coletadas em frascos âmbar previamente pesados em balança analítica (SHIMADZU AY 220).



**Figura 20** - Esquema do empacotamento do leito na coluna de extração.

Para os ensaios cinéticos, as amostras foram coletadas em intervalos de tempo pré-determinados. A curva de massa de extrato acumulada vs tempo foi construída para determinação dos parâmetros do modelo de Sovová (1994):  $t_{CER}$ , duração da etapa CER (min) e  $M_{CER}$  (valor da tangente ao período CER) foram obtidos usando uma regressão linear por partes.

### 3.7.4 Modelagem Cinética

A modelagem matemática da cinética da ESC foi realizada através do ajuste não linear dos modelos citados no item 2.4.3.2 aos dados experimentais. Os ajustes foram realizados utilizando o *software Mass Transfer*, desenvolvido pelo Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica da Universidade Federal de Santa Catarina (LATESC), o qual utiliza o método da máxima verossimilhança para minimizar a soma dos quadrados dos desvios calculados (KITZBERGER *et al.*, 2009).



## 3.8 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

### 3.8.1 Compostos Fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais presentes nos extratos de semente de umbu foi realizada utilizando a metodologia de Folin-Ciocalteu proposta por Koşar, Dorman e Hiltunen (2005).

Essa metodologia baseia-se na redução que ocorre em meio básico dos ácidos fosfotúngstico e fosfomolibdico presentes no reagente de Folin-Ciocalteu. Os produtos finais das reações são óxidos de tungstênio e molibdênio que são de cor azulada e têm absorvância máxima em torno de 760 nm.

Inicialmente os extratos foram diluídos em etanol para uma concentração final de 10 mg/mL. A reação foi realizada em tubos do tipo *Eppendorf*, onde foram adicionados sequencialmente, 600 µL de água destilada, 10 µL da solução de extrato e 50 µL do reagente de Folin-Ciocalteu. Em seguida, agitaram-se os tubos e adicionou-se 150 µL de carbonato de sódio a 20% (m/v) e 190 µL de água. Agitou-se novamente o meio reacional e em seguida os tubos foram incubados à temperatura ambiente ao abrigo da luz por 2 h. Uma amostra controle (branco) foi preparada da mesma maneira, substituindo-se a solução de extrato por etanol.

Após o processo acima descrito, foram medidas as absorvâncias das amostras em espectrofotômetro (Modelo 800XI, Femto) a 760 nm. Valores de absorvância foram comparados aos obtidos por uma curva de calibração utilizando ácido gálico como padrão (Apêndice I). O teor de compostos fenólicos expresso em equivalentes de ácido gálico (EAG) por massa de extrato foi calculado através da Equação 27.

$$CFT = \frac{C_{EAG}}{C_{extrato}} \times 1000 \quad (27)$$

Considera-se CFT o teor de compostos fenólicos totais em (mg de EAG/g de amostra),  $C_{EAG}$  a concentração em (mg/mL) de equivalentes de ácido gálico obtida usando a curva de calibração e  $C_{extrato}$  a concentração em (mg/mL) da solução de extrato.

### 3.8.2 Método de descoloração do sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico

O potencial antioxidante dos extratos da semente de umbu foi medido através da metodologia descrita por Matthäus (2002). Esse método está fundamentado no monitoramento espectrofotométrico da descoloração (oxidação) do  $\beta$ -caroteno pelos produtos de degradação (radicais livres) do ácido linoleico. Esses radicais atacam as ligações duplas conjugadas do  $\beta$ -caroteno, responsáveis pela sua coloração alaranjada, causando descoloração do sistema reacional. A adição de uma quantidade determinada de um extrato ao sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico e o monitoramento da descoloração ao longo de um tempo fixo fornece uma medida da atividade antioxidante do extrato.

A emulsão de  $\beta$ -caroteno foi preparada adicionando-se em um frasco âmbar, 44  $\mu$ L de ácido linoleico, 400 mg de Tween 20, 3,4 mg de  $\beta$ -caroteno e 5 mL clorofórmio. Em seguida, agitou-se o frasco e removeu-se o solvente em evaporador rotativo (Modelo 801, FISATOM) a 313 K e pressão de vácuo de 700 mmHg.

Posteriormente, foram adicionados 100 mL de água destilada ao frasco âmbar e agitou-se até formar uma emulsão. Uma emulsão de branco foi preparada igualmente, porém sem a adição do  $\beta$ -caroteno.

Em seguida, foram adicionados em tubos do tipo *Eppendorf*, 40  $\mu$ L da solução de extrato (1666,67  $\mu$ g/mL) e 1 mL da emulsão de  $\beta$ -caroteno. Para cada amostra foi preparado um branco, adicionando 40  $\mu$ L e 1 mL de emulsão de branco. Além disso, foi preparada uma amostra controle, adicionando 40  $\mu$ L de etanol e 1 mL de emulsão de  $\beta$ -caroteno.

Por fim, todas as amostras (extratos, brancos e controle) foram incubadas em banho termostático (Biomatic) a 323 K. Foram feitas leituras de absorvância no tempo inicial e após 2 h. A atividade antioxidante foi calculada de acordo com a Equação 28:

$$AA (\%) = \left\{ 1 - \frac{[(Abs_{a\ t=120} - Abs_{ba\ t=120}) - (Abs_{a\ t=0} - Abs_{ba\ t=0})]}{[(Abs_{c\ t=120} - Abs_{bc\ t=120}) - (Abs_{c\ t=0} - Abs_{bc\ t=0})]} \right\} \times 100 \quad (28)$$

com  $Abs_{a\ t=120}$  representando o valor de absorvância da amostra lido após 120 min,  $Abs_{b\ t=120}$  o valor de absorvância do branco da amostra lido após 120 min,  $Abs_{a\ t=0}$  o valor de absorvância da amostra lido imediatamente após o preparo do meio reacional,  $Abs_{ba\ t=0}$  o valor de absorvância do branco da amostra lido imediatamente após o preparo do meio reacional,  $Abs_{c\ t=120}$  o valor de absorvância do controle lido após 120 min,  $Abs_{c\ t=120}$  o valor de absorvância do branco do controle lido após 120 min,  $Abs_{c\ t=0}$  o valor de absorvância do controle lido imediatamente após o preparo do meio reacional,  $Abs_{bc\ t=0}$  o valor de absorvância do branco do controle lido imediatamente após o preparo do meio reacional.

### 3.8.3 Captura do radical DPPH

A avaliação da capacidade antioxidante dos extratos de semente de umbu pelo método de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH<sup>·</sup>) foi realizada utilizando a metodologia proposta por Mensor *et al.* (2015). Esse método avalia a capacidade do extrato em transferir elétrons ao radical livre estável DPPH<sup>·</sup>, de coloração púrpura, para formar o DPPH-H. A partir dos resultados obtidos por espectrofotometria (517 nm), determina-se a porcentagem de atividade antioxidante, isto é, a quantidade de DPPH consumido pela substância ou extrato.

Foram preparadas soluções<sup>3</sup> etanólicas dos extratos em concentrações finais que variaram de 5 µg/mL a 30 mg/mL. Adicionaram-se em tubos do tipo *Eppendorf*, 290 µL de uma solução etanólica de DPPH 0,3 mM e 710 µL de soluções de amostra de diferentes concentrações, as quais reagiram a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. De forma semelhante, foram preparados brancos (substituição da solução de DPPH por etanol) e uma amostra controle (apenas a solução de DPPH). Após 30 minutos, os valores de absorvância foram medidos a 517 nm e convertidos em porcentagem de atividade antioxidante utilizando a Equação 29.

$$AA (\%) = \left( 1 - \frac{Abs_a - Abs_b}{Abs_c} \right) \times 100 \quad (29)$$

<sup>3</sup> Extratos com menor atividade necessitaram soluções mais concentradas para obtenção de valores AA (%) próximos de 50%.

Com  $Abs_a$  representando o valor de absorvância da amostra,  $Abs_b$  o valor de absorvância do branco e  $Abs_c$  o valor de absorvância do controle.

Foi calculado também a concentração efetiva necessária para capturar-se 50% do radical DPPH ( $EC_{50}$ ). O valor de  $EC_{50}$  foi calculado através da equação da reta obtida utilizando uma regressão linear dos dados AA (%) vs Concentração de extrato.

### 3.9 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DOS EXTRATOS

Em 25 mg de amostra, foi adicionado 0,5 mL de solução de KOH em metanol a 0,5 mol/L e, em seguida, o sistema passou por agitação por 2 minutos. Após, foram adicionados 2 mL de n-hexano e novamente o sistema foi agitado por 2 minutos. As amostras foram centrifugadas por 6 minutos a 4500 rpm e 25°C. Os sobrenadantes foram filtrados em filtro politetrafluoretileno hidrofóbico (0,22  $\mu$ m) e posteriormente injetados na coluna cromatográfica.

A identificação dos AG presentes nos extratos foi realizada por Cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) (Agilent, modelo 7890), usando uma a coluna DB-5ms (30 m comprimento  $\times$  250  $\mu$ m diâmetro  $\times$  0,25  $\mu$ m de espessura do filme). A coluna foi aquecida a 423 K por 4 min, com rampa de 4 K/min até 553 K, mantendo por 5 min. Os AG foram identificados através da comparação dos tempos de retenção dos picos observados nas amostras em relação aos padrões (FAME Supelco™ *mix* C<sub>4</sub>-C<sub>24</sub>, Bellefonte, PA, USA). Os AG foram quantificados através do método da normalização das áreas dos picos e os resultados foram expressos em percentual.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E DO LEITO FIXO

Os resultados dos parâmetros que caracterizam a matéria-prima e o leito fixo de partículas são apresentados na Tabela 5.

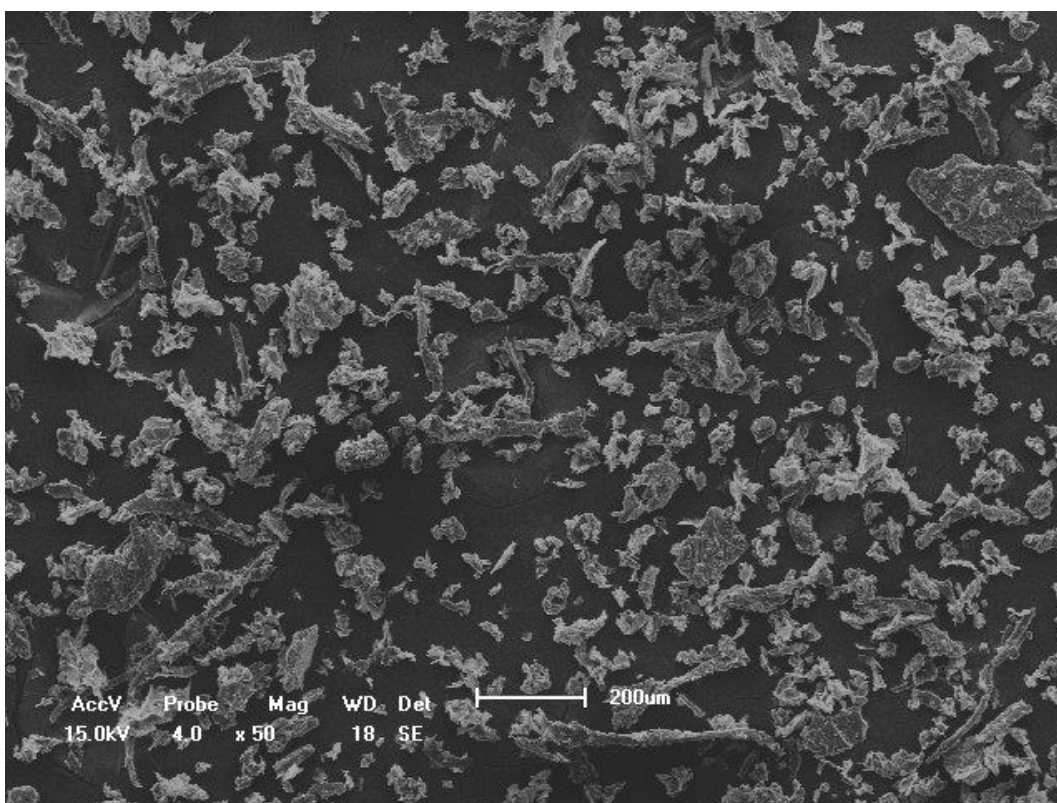
**Tabela 5** - Parâmetros de caracterização da matéria-prima e do leito fixo de partículas.

Parâmetro	Valores obtidos
Umidade (%)	8,52 ± 0,04
Massa específica real (g/cm <sup>3</sup> )	1,4073 ± 0,0005
Massa específica aparente (g/cm <sup>3</sup> )	0,281 + 0,001
Porosidade	0,800
Diâmetro médio (µm)	8,73

Como pode ser observado na Tabela 5, a matéria-prima depois de seca e moída apresentou umidade de 8,52 %. Alto teor de umidade geralmente não é desejável porque a umidade atua como uma barreira à transferência de massa (LI *et al.*, 2010). Em contrapartida, a umidade expande a estrutura da célula, facilitando a transferência de massa do solvente e do soluto através da matriz sólida. Geralmente valores de umidade entre 3% e 10% não tem impacto negativo significativo na transferência de massa de óleo de sementes (MARTÍNEZ, 2008).

As partículas da matéria-prima apresentaram um diâmetro médio de 8,73 µm. Prado *et al.* (2012) e Carvalho *et al.* (2015) reportaram valores mais altos, na faixa de 675 a 779 µm para semente de uva e cúrcuma, respectivamente. Para a maioria das aplicações, a diminuição do diâmetro médio das partículas tem efeito positivo no rendimento. Porém, com diâmetros muito pequenos pode ocorrer compactação excessiva do leito, criando caminhos preferenciais e causando efeitos indesejáveis ao processo (CHEMAT; VIAN, 2014).

A morfologia das partículas da matéria-prima utilizada está apresentada na Figura 21. A matriz vegetal estudada apresenta-se bastante heterogênea, sendo sua geometria bastante variada.



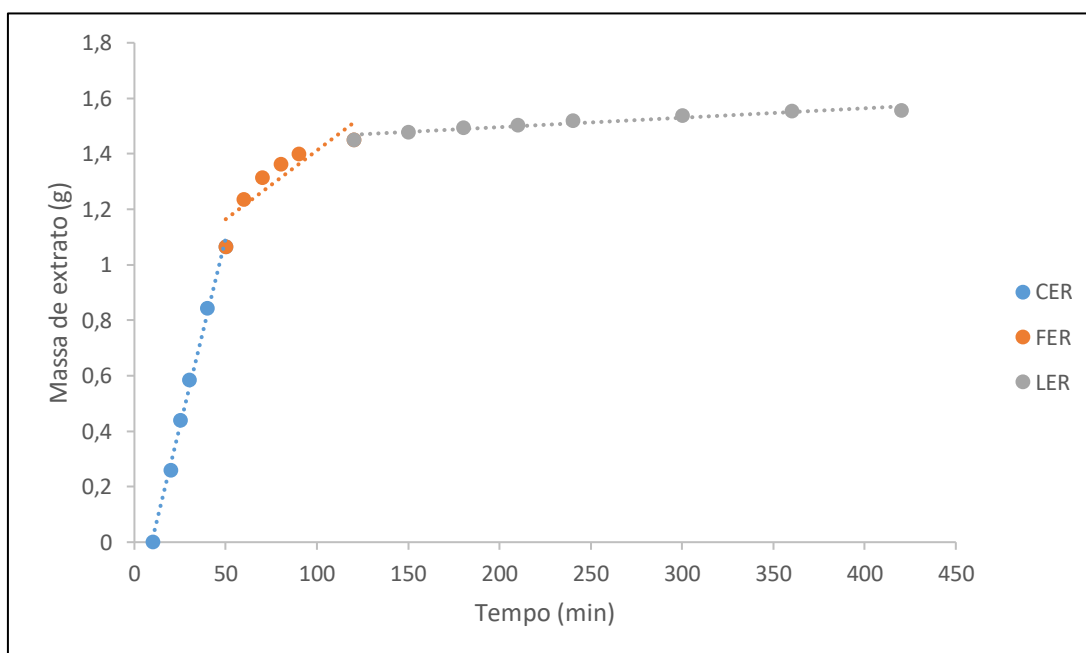
**Figura 21** - Micrografia da semente de umbu moída.

As variáveis que caracterizam o leito fixo de partículas são de bastante importância para o estudo dos fenômenos de transferência de massa, pois geralmente são parâmetros não ajustáveis necessários para ajuste dos modelos teóricos e empíricos aos dados experimentais.

## 4.2 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

### 4.2.1 Determinação da cinética de extração supercrítica

A determinação da curva global de extração (CGE) é importante para escolha do tempo ideal de extração. Para avaliação do efeito das condições operacionais na determinação do rendimento global de extração (RND %) é necessário que os ensaios sejam realizados em um tempo fixo de extração. Este tempo é definido com base nas etapas da curva global de extração (Figura 22). Para esta análise, foi escolhida a condição de pressão e temperatura de 20 MPa e 313 K, condição intermediária dentro delimitação experimental escolhido.



**Figura 22** - Curva global de extração (CGE) do extrato de semente de umbu a 20MPa, 313 K e 0,7 kg/h. CER: etapa de taxa constante de extração, FER: etapa de taxa decrescente de extração e LER: etapa difusiva.

Em processos industriais, é importante alcançar quantidades elevadas de um componente dentro de um curto período. Uma vez que o período de CER é responsável por grande percentual da quantidade total de soluto extraído, geralmente é adequado terminar o processo após este período (PRADO *et al.*, 2013). Neste trabalho, foi escolhido 180 min como tempo ideal de extração, intervalo de tempo que

faz parte da etapa LER. Como pode ser visto na Figura 22, cerca de 95 % do extrato obtido nessa condição é extraído nos primeiros 180 min de processo.

Os parâmetros cinéticos de cada etapa de extração estão apresentados na Tabela 6. Esses dados em conjunto com estimativas da solubilidade do óleo são dados de entrada para o modelo de Sovová (1994). Como pode ser visualizado na Tabela 6, um alto percentual de extrato foi obtido na etapa CER (68,48 %). Além disso, foram necessários cerca de 50 min para atingir esse valor. De acordo com Pereira e Meireles (2010) de 50 a 90% da quantidade de extrato é obtida na etapa CER, exceto nos casos onde o soluto é pouco solúvel no FS ou está localizado em estruturas celulares de difícil acesso.

Como pode ser visto na Tabela 6, houve decréscimo significativo da taxa de extração da etapa CER (0,026 g/min) para as etapas FER (0,005 g/min) e LER (0,0003 g/min). Esse comportamento indica que a convecção é o principal mecanismo de transferência de massa que governa o processo e que esse é limitado pela difusão.

**Tabela 6** - Parâmetros cinéticos da ESC de semente de umbu a 20 MPa, 313 K e 0,7 kg/h.

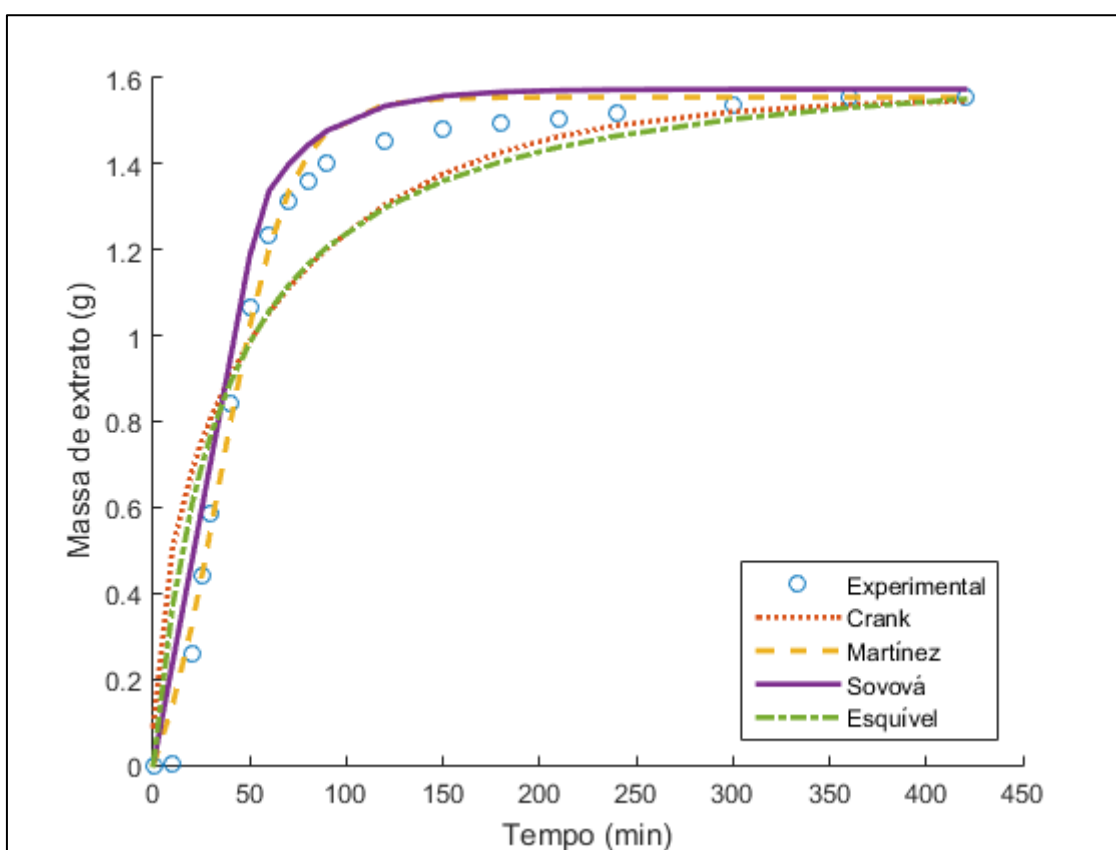
Parâmetros	Período de extração		
	CER	FER	LER
t (min)	0 - 50	50 - 120	>120
m (g)	1,0651	0,3863	0,1039
Percentual de extrato obtido em cada etapa (%)	68,48	24,84	6,68
M (g/min)	0,026	0,005	0,0003
Y (g/g)	0,002	-	-

t - duração da etapa de extração; m - massa de extrato aproximada; M - taxa de extração; Y - concentração de soluto na fase solvente.

A Figura 23 apresenta a curva experimental e a modelagem da ESC de semente de umbu, a 20 MPa, 313 K e 0,7 kg/h. Os modelos de analogia à



transferência de calor de Crank (1975) e o modelo empírico de Esquivel, Bernardo-Gil e King (1999) superestimaram os valores de massa de soluto extraído no início da etapa CER e subestimaram os valores finais da etapa CER, FER e o início da etapa LER, enquanto que os modelos de Sovová (1994) e Martínez *et al.* (2003) descreveram bem a etapa CER, mas superestimaram os valores de massa da etapa FER e os valores iniciais da etapa LER.



**Figura 23** - Modelagem cinética da ESC de óleo de semente de umbu a 20MPa, 313 K e 0,7 kg/h.

Os parâmetros ajustáveis dos modelos e os valores do erro quadrado médio do ajuste (EQM) estão representados na Tabela 7.

**Tabela 7** -Parâmetros ajustáveis dos modelos utilizados.

<b>Modelo</b>	<b>Parâmetro</b>	<b>Valor</b>
Crank (1975)	$D_{ap}$ ( $m^2/min$ )	$1,803 \times 10^{-14}$
	EQM	$4,018 \times 10^{-2}$
Esquível, Bernardo-Gil e King (1999)	$b_1$ ( $min^{-1}$ )	35,45
	EQM	$2,829 \times 10^{-2}$
Martínez <i>et al.</i> (2003)	$b$ ( $min^{-1}$ )	0,0547
	$t_m$ (min)	34,21
	EQM	$2,947 \times 10^{-3}$
Sovová (1994)	$K_{xa}$ ( $min^{-1}$ )	0,00607
	$K_{ya}$ ( $min^{-1}$ )	0,0290
	EQM	$1,557 \times 10^{-2}$

$D_{ap}$  - coeficiente de difusão do modelo de Crank (1975); EQM: erro quadrático médio;  $b_1$  - parâmetro adimensional ajustável do modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999);  $b$  e  $t_m$  - parâmetros ajustáveis de Martínez *et al.* (2003);  $K_{xa}$  - coeficiente de transferência de massa para a fase sólida e  $K_{ya}$  - coeficiente de transferência de massa para a fase fluida.

Dentre os modelos aplicados, os modelos de Martínez *et al.* (2003) e Sovová (1994) foram os que melhor se ajustaram aos dados experimentais com EQM:  $2,947 \times 10^{-3}$  e  $1,557 \times 10^{-2}$ , respectivamente. Botelho *et al.* (2015) avaliaram o ajuste de alguns modelos aos dados experimentais da ESC de óleo de folha de copaíba, observando que os modelos de Martínez *et al.* (2003) e Sovová (1994) também apresentaram os melhores ajustes.

Os modelos de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999), Crank (1975) e Sovová (1994) apresentaram valores de EQM de mesma ordem de grandeza, de 1,557 a  $4,018 \times 10^{-2}$ . Embora esses modelos apresentem EQM de mesma magnitude, eles não descrevem as etapas da curva de extração de mesma maneira. As curvas modeladas pelos modelos de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) e Crank (1975) têm a forma de uma hipérbole e por isso não descrevem bem dados experimentais

onde a etapa CER é longa, como o que pode ser observado na Figura 23 . Uma etapa CER longa é característica de sistemas nos quais a maior parte do soluto tem fácil contato com o solvente. Já a curva modelada pelo modelo de Sovová (1994) descreve bem a fase CER do processo de extração (REIS *et al.*, 2016).

Além disso, o modelo de Crank (1975) apresentou maior EQM ( $4,018 \times 10^{-2}$ ) em relação aos discutidos anteriormente. Esse modelo parte do pressuposto de que a extração é governada unicamente pelo mecanismo de difusão, sendo portanto a alta etapa convectiva (CER) observada neste trabalho a principal fonte de erro no ajuste (HUANG; SHI; JIANG, 2012).

Apesar do bom ajuste do modelo de Martínez *et al.* (2003) aos dados experimentais, não recomenda-se o uso desse para comparação da cinética de extração com outros fluidos supercríticos. Os parâmetros de entrada desse modelo não conseguem expressar as diferenças no poder de solvência que podem existir entre diferentes solventes supercríticos. Por fim, para o sistema investigado, recomenda-se o uso do modelo de Sovová (1994) para descrição cinética do processo. Os parâmetros desse modelo conseguem descrever as diferenças entre os diversos solventes, além fornecer uma boa descrição física dos fenômenos de transferência de massa.

#### 4.2.2 Obtenção dos extratos totais

Os rendimentos de extração dos extratos totais obtidos por várias técnicas de extração são apresentados na Tabela 8. Como pode ser visualizado nessa Tabela, foi possível obter-se quantidades razoáveis de extratos por todas as técnicas estudadas, tanto com solventes polares como apolares, indicando que a semente de umbu é rica em uma variedade de compostos de diferentes polaridades.

O extrato do refinado da ESC a 15 MPa (RAF-US<sub>70/30</sub>) foi o que apresentou maior rendimento (10,9 %), sendo quase o dobro do valor obtido por Omena *et al.* (2012) (5,6 %) para a extração por maceração da semente de umbu com etanol puro.

Foi possível verificar que a pressão não teve efeito significativo no rendimento (nos níveis estudados) utilizando ESC, uma vez que os valores de rendimento foram estatisticamente iguais. Esse resultado sugere que o aumento de pressão foi ineficaz para aumento da taxa de extração. Esse comportamento também foi observado por Guindani *et al.* (2016), ao estudarem o efeito da pressão no rendimento da ESC de resíduo de chia. Os valores obtidos a 313 K e 15, 20 e 30 MPa foram: 8,6 %, 8,56 % e 9,3 %, respectivamente.

**Tabela 8** - Rendimento dos extratos totais obtidos por várias técnicas de extração.

Método de extração <sup>(1)</sup>	Solvente	Temperatura (K)	Massa específica (g/cm <sup>3</sup> ) <sup>(2)</sup>	RND (%) <sup>(3)</sup>
ESC <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	313	0,780	6,5 <sup>deA</sup> ± 0,4
ESC <sub>20</sub>	CO <sub>2</sub>	313	0,840	6,4 <sup>de</sup> ± 0,04
ESC <sub>30</sub>	CO <sub>2</sub>	313	0,910	7,1 <sup>cd</sup> ± 0,7
US <sub>Hex</sub>	n-hexano	298		7,8 <sup>bcd</sup> ± 0,1
US <sub>EtOH</sub>	Etanol	298		5,0 <sup>ef</sup> ± 0,4
US <sub>70/30</sub>	EtOH/H <sub>2</sub> O	298		7,1 <sup>cd</sup> ± 0,1
SOX <sub>Hex</sub>	n-hexano	369		8,4 <sup>bc</sup> ± 0,5
SOX <sub>EtOH</sub>	Etanol	369		9,1 <sup>b</sup> ± 0,9
ESC(1h) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	313	0,780	3,5 <sup>f</sup>
ESC-CS(2h) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub> + EtOH/H <sub>2</sub> O	313		3,9 <sup>f</sup> ± 0,03
<sup>(4)</sup> ESC(1h) <sub>15</sub> +ES C-CS(2h) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub> + EtOH/H <sub>2</sub> O	313		7,4 <sup>A</sup> ± 0,04
RAF-US <sub>70/30</sub>	EtOH/H <sub>2</sub> O	298		10,9 <sup>a</sup>

<sup>(1)</sup> ESC<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa; ESC<sub>20</sub>: Extração supercrítica a 20 MPa; ESC<sub>30</sub>: Extração supercrítica a 30 MPa; US<sub>Hex</sub>: Extração assistida por ultrassom com n-hexano; US<sub>EtOH</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol; US<sub>70/30</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol/H<sub>2</sub>O (70:30); RAF-US<sub>70/30</sub>: Extração com ultrassom usando Etanol/H<sub>2</sub>O (70:30); do refinado da ESC<sub>15</sub>; SOX<sub>Hex</sub>: Extração por *Soxhlet* com n-hexano; SOX<sub>EtOH</sub>: Extração por *Soxhlet* com Etanol; ESC(1h)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa por 1h; ESC-CS(2h)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa com cossolvente por 2h.

<sup>(2)</sup> Valores compilados por Anwar e Carroll (2015). <sup>(3)</sup> Médias seguidas de mesmas letras numa respectiva coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. <sup>(4)</sup> Foi considerado todo o processo, isto é, o somatório das duas etapas sequenciais, no intuito de verificar se a adição do cossolvente em uma segunda etapa sequencial incremental o rendimento final. Foi realizada uma ANOVA apenas com os resultados a 15 MPa (CO<sub>2</sub> puro) e 15 MPa + cossolvente. As médias seguidas de letras maiúsculas numa mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

O rendimento da ESC a 30 MPa foi estatisticamente igual ao rendimento obtido por *Soxhlet* e ultrassom usando n-hexano. Esse desempenho contrasta com o reportado por Salvador *et al.* (2016), onde o rendimento de extração de noz de pecan por ESC a 30 MPa e 313 K foi significativamente menor que o obtido por *Soxhlet* e ultrassom. Os valores citados para ESC, *Soxhlet* e ultrassom foram: 58,4 %, 61,5 % e 55 %, respectivamente.

Os resultados obtidos nesse estudo indicam que a ESC pode ser utilizada em substituição aos processos de extração com n-hexano, porém com um diferencial, os extratos obtidos por ESC não contêm resíduos de solventes orgânicos.

Os dados experimentais sugerem que a adição de 5% do cossolvente etanol/água (70:30) à ESC a 15 MPa, durante a segunda hora de extração, não incrementa o rendimento total final obtido. Embora não aumente significativamente o rendimento, a adição do cossolvente pode alterar o perfil químico do extrato e sua atividade antioxidante. Esse comportamento será discutido nos itens 4.3 e 4.4.

Em comparação com os demais resultados, a extração usando *Soxhlet* com etanol apresentou o segundo maior rendimento, de 9,12 %. As condições de alta temperatura, reciclagem de solvente e interações solvente/soluto, no método *Soxhlet*, contribuem para a maior solubilização de componentes da matéria-prima. Além disso, como o processo é realizado à temperatura de ebulição do solvente, a tensão superficial e a viscosidade são baixas em comparação com aquelas à temperatura mais baixa. Por conseguinte, o solvente atinge os locais ativos dentro da matriz sólida muito mais facilmente, promovendo boa solubilização (MAZZUTTI *et al.*, 2012).

### 4.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação de compostos fenólicos totais é importante para avaliação da atividade antioxidante de resíduos agroindustriais, uma vez que estes geralmente são altamente correlacionados com a atividade antioxidante (CHAN *et al.*, 2014). Os teores de compostos fenólicos totais (CFT) nos diversos extratos obtidos (Tabela 8) estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9** - Teor de compostos fenólicos totais (CFT) nos extratos de semente de umbu obtidos por várias técnicas de extração.

Método de extração <sup>(1)</sup>	Solvente	CFT (mg EAG/ g extrato) <sup>(2)</sup>
ESC <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	2,7 <sup>g</sup> ± 0,6
ESC <sub>20</sub>	CO <sub>2</sub>	2,5 <sup>g</sup> ± 0,1
ESC <sub>30</sub>	CO <sub>2</sub>	3,5 <sup>g</sup> ± 0,2
US <sub>Hex</sub>	n-hexano	2,1 <sup>g</sup> ± 0,2
US <sub>EtOH</sub>	Etanol	10,0 <sup>e</sup> ± 0,6
US <sub>70/30</sub>	EtOH/H <sub>2</sub> O	<b>76,2<sup>a</sup> ± 0,7</b>
SOX <sub>Hex</sub>	n-hexano	3,3 <sup>g</sup> ± 0,6
SOX <sub>EtOH</sub>	Etanol	<b>33,5<sup>c</sup> ± 0,9</b>
RAF-US <sub>70/30</sub>	EtOH/H <sub>2</sub> O	<b>73,0<sup>b</sup> ± 4,0</b>
ESC(1h) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	6,8 <sup>f</sup> ± 1,1
ESC-CS(2h) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	12,7 <sup>d</sup> ± 1,1

<sup>(1)</sup> Os extratos foram obtidos nas condições descritas na Tabela 8. ESC<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa; ESC<sub>20</sub>: Extração supercrítica a 20 MPa; ESC<sub>30</sub>: Extração supercrítica a 30 MPa; US<sub>Hex</sub>: Extração assistida por ultrassom com n-hexano; US<sub>EtOH</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol; US<sub>70/30</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol/H<sub>2</sub>O (70:30); RAF-US<sub>70/30</sub>: Refinado da ESC<sub>15</sub> submetido a ultrassom com EtOH/H<sub>2</sub>O (70:30); SOX<sub>Hex</sub>: Extração por *Soxhlet* com n-hexano; SOX<sub>EtOH</sub>: Extração por *Soxhlet* com Etanol; ESC(1h)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa por 1h; ESC-CS(2h)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa com cossolvente por 2h. <sup>(2)</sup>As médias seguidas de mesmas letras numa respectiva coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Os valores de CFT em termos de equivalentes de ácido gálico variaram de 2,5 a 76,2 mg EAG/g extrato. Valores inferiores aos reportados por Omena *et al.* (2012) para extrato de semente de umbu obtido por maceração (202 mg EAG/ g extrato). Porém, deve-se considerar as variações no teor de CFT que podem ocorrer em uma mesma espécie vegetal como resposta aos diversos fatores abióticos. Segundo Akula e Ravishankar (2011), a síntese e acumulação de metabólitos secundários nos vegetais é influenciada por diversos fatores abióticos, como temperatura, umidade, salinidade e alcalinidade do solo. Portanto, a simples comparação de resultados quantitativos deve ser feita com cautela. Adicionalmente, a semente mostrou-se ser

mais rica em fenólicos que a polpa. Rufino *et al.* (2009) observaram um valor de CFT de 0,90 mg EAG/g extrato.

Observou-se um baixo teor de CFT nos extratos que foram obtidos com n-hexano, indicando que parte significativa dos compostos fenólicos presentes na semente do umbu tem natureza polar. Esses resultados corroboram os apresentados por Razali *et al.* (2012) que avaliaram o efeito de vários solventes no rendimento de extração de compostos fenólicos de *Tamarindus indica* L. Para todas as partes da planta estudadas, o teor de fenólicos totais foi menor quando utilizou-se n-hexano como solvente.

Os teores de fenólicos nos extratos obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico também foram baixos. A solubilidade desses compostos em CO<sub>2</sub> supercrítico é baixa: a solubilidade de diversos fenólicos encontrados em matrizes vegetais (ácido protocatequínico, ácido p-coumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, metil galato e (-)-epicatequina) fica na ordem de 10<sup>-7</sup> (mol/mol) a 313 K para os níveis de pressão investigados (MURGA *et al.*, 2002; MURGA *et al.*, 2004; MURGA *et al.*, 2003). Nas condições experimentais estudadas, a solubilidade dos principais fenólicos encontrados em vegetais varia bastante, porém esses valores são baixos em relação à solubilidade de compostos muito apolares, como por exemplo, o ácido palmítico, que tem solubilidade em base molar na ordem de 10<sup>-4</sup> (GARLAPATI; MADRAS, 2010).

O extrato obtido por ESC a 15 MPa durante uma hora de extração (ESC(1h)<sub>15</sub>) apresentou maior teor de CFT que o extrato obtido por ESC a 15 MPa (ESC<sub>15</sub>, que tem duração três horas de extração). Pode-se esperar que o extrato obtido em maior tempo de processo apresente maior teor de CFT. Entretanto, os resultados experimentais evidenciam um comportamento diferente, sugerindo que diferentes compostos são extraídos em maior quantidade em intervalos de tempo diferentes, ou seja, a extração com duração de uma hora ((ESC(1h)<sub>15</sub>) foi mais seletiva em CFT que o ensaio ESC<sub>15</sub>, obtendo-se extratos mais concentrados nesses compostos.

A seletividade da extração em função do tempo pode ocorrer em várias condições experimentais e para vários tipos de matriz vegetal. Esta já foi reportada por (FARÍAS-CAMPOMANES *et al.*, 2015). Esses autores estudaram a recuperação



de polifenóis da borra de pisco através de extração supercrítica com CO<sub>2</sub> + 10% etanol. A 20 MPa foi observado que os ácidos p-coumárico e ferúlico apresentaram maior concentração nos estágios iniciais da extração, indicando que houve uma maior seletividade para esses compostos.

Na Tabela 9, com relação à adição de cossolvente ao fluido supercrítico, os resultados experimentais sugerem que a adição desse, a partir da segunda hora de extração, incrementa o conteúdo de fenólicos em 12,7 mg EAG/g extrato.

A adição de cossolventes polares à extração com CO<sub>2</sub> supercrítico é uma prática bastante reportada pela literatura quando se deseja aumentar os rendimentos de substâncias com caráter polar, como a maioria dos compostos fenólicos. Um cossolvente é uma substância orgânica que é geralmente adicionada em baixas proporções ao solvente supercrítico, de forma a alterar algumas propriedades do mesmo, tais como polaridade, polarizabilidade e interações específicas soluto/solvente, sem alterar significativamente a massa específica e a compressibilidade do FS original (MUKHOPADHYAY, 2000).

Monroy *et al.* (2016) estudaram influência do etanol, água, e suas misturas como cossolventes na extração supercrítica de fenólicos oriundos de milho azul. Os maiores valores de CFT foram observados para extratos obtidos com uma solução etanol/água a 70%.

No que diz respeito aos ensaios de extração assistida por ultrassom utilizando solvente etanol/água 70%, observou-se uma pequena diminuição no teor de CFT do refinado da ESC a 15 MPa (RAF-US<sub>70/30</sub>: 73,02 mg EAG/g extrato) em relação a amostra original (US<sub>70/30</sub>: 76,24 mg EAG/g extrato). Esse é um resultado interessante, pois mostra uma possível aplicação de um subproduto da ESC.

Zeković *et al.* (2015) propuseram o aproveitamento do refinado da ESC de sementes de coentro como fonte de compostos fenólicos. Bons resultados foram observados utilizando extração assistida por ultrassom, onde o maior teor de CFT apresentado foi para o ensaio realizado com água como solvente (308,55 mg EAG/100 g de refinado).

## 4.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Avaliar a atividade antioxidante de algum extrato utilizando apenas um método é um grande desafio. Um único antioxidante pode atuar num sistema por diversos mecanismos e a sua eficácia pode ser diferente contra diferentes fontes de radicais ou oxidantes (TAN; LIM, 2015). Diversos protocolos de avaliação do potencial antioxidante de extratos vegetais têm sido desenvolvidos, entre esses, o método de captura do radical DPPH e o método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linolênico estão entre os mais utilizados (ALAM; BRISTI; RAFIQUZZAMAN, 2013). O método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico emprega um lipídeo emulsionado, sendo portanto aplicável especialmente para investigar antioxidantes lipofílicos. Já o método de captura do radical DPPH permite a avaliação do potencial antioxidante de compostos lipofílicos e hidrofílicos (OLORUNJUWON; GBDEGESIN; ODUNOLA, 2015).

### 4.4.1 Método de descoloração do sistema $\beta$ -caroteno/ácido linoleico

Os valores de atividade antioxidante (AA %) dos extratos pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico estão apresentados na Tabela 10. Esses variaram bastante nos vários extratos obtidos (12,92 a 71,44%). Os extratos obtidos por extração assistida por ultrassom (EAU) apresentaram maiores valores, de 71,44 % para o ensaio US70/30 e 70,53% para RAF-US<sub>70/30</sub>. Os resultados sugerem que o efeito de ondas ultrassônicas é efetivo na extração de antioxidantes da semente de umbu. As ondas sonoras criam bolhas de cavitação na superfície da matriz vegetal que ao se romperem, causam danos nas estruturas celulares, facilitando a penetração do solvente e liberando assim os antioxidantes aprisionados na matriz (KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013).

**Tabela 10** - Valores de atividade antioxidante (AA %) dos extratos de semente de umbu obtidos pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Método de extração <sup>(1)</sup>	Solvente	AA (%) <sup>(2)</sup>
ESC <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	17,1 <sup>ef</sup> ± 1,7
ESC <sub>20</sub>	CO <sub>2</sub>	14,2 <sup>f</sup> ± 0,4
ESC <sub>30</sub>	CO <sub>2</sub>	16,1 <sup>ef</sup> ± 1,8
US <sub>Hex</sub>	n-hexano	22,9 <sup>d</sup> ± 0,9
<b>US<sub>EtOH</sub></b>	<b>Etanol</b>	<b>32,5<sup>c</sup> ± 0,4</b>
<b>US<sub>70/30</sub></b>	<b>EtOH/H<sub>2</sub>O ((70:30 (v/v)))</b>	<b>71,4<sup>a</sup> ± 3,3</b>
SOX <sub>Hex</sub>	n-hexano	20,1 <sup>de</sup> ± 2,2
<b>SOX<sub>EtOH</sub></b>	<b>Etanol</b>	<b>48,9<sup>b</sup> ± 1,0</b>
<b>RAF-US<sub>70/30</sub></b>	<b>EtOH/H<sub>2</sub>O ((70:30 (v/v)))</b>	<b>70,5<sup>a</sup> ± 3,8</b>
ESC(1h) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	12,9 <sup>f</sup> ± 0,4
ESC-CS(2h) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	20,2 <sup>de</sup> ± 1,7

<sup>(1)</sup> Os extratos foram obtidos nas condições descritas na Tabela 8. ESC<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa; ESC<sub>20</sub>: Extração supercrítica a 20 MPa; ESC<sub>30</sub>: Extração supercrítica a 30 MPa; US<sub>Hex</sub>: Extração assistida por ultrassom com n-hexano; US<sub>EtOH</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol; US<sub>70/30</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol/H<sub>2</sub>O (70:30); RAF-US<sub>70/30</sub>: Refinado da ESC<sub>15</sub> submetido a ultrassom com EtOH/H<sub>2</sub>O (70:30); SOX<sub>Hex</sub>: Extração por *Soxhlet* com n-hexano; SOX<sub>EtOH</sub>: Extração por *Soxhlet* com Etanol; ESC(1h)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa por 1h; ESC-CS(2h)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa com cossolvente por 2h. <sup>(2)</sup>As médias seguidas de mesmas letras numa respectiva coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Os resultados apresentados na Tabela 10 mostram que a AA % aumenta com o incremento de polaridade do solvente para um mesmo tipo de extração, sugerindo que a AA % é de alguma forma dependente da presença de substâncias de caráter polar nos extratos. Os dados reportados por Oliveira *et al.* (2016) indicaram altos valores de AA % para extratos de resíduos de maracujá (torta e semente) obtidos por extração assistida por ultrassom com solventes polares. Os autores observaram que os maiores valores foram alcançados utilizando como solventes: acetato de etila (torta: 92 %, semente: 61 %); etanol/água (torta: 89,3 %, semente: 72,3 %) e etanol (torta: 83 %, semente: 31 %).

Em geral, os extratos obtidos por ESC apresentaram baixa atividade antioxidante. O CO<sub>2</sub>, por sua característica apolar, não favorece a solubilização de compostos fenólicos de polaridade intermediária a alta, sendo seus extratos pobres nesses compostos, o que pode explicar o baixo potencial antioxidante desses extratos (BENELLI *et al.*, 2010).

#### **4.4.2 Método de captura do radical DPPH**

Os valores de EC<sub>50</sub> para os extratos obtidos estão apresentados na Tabela 11. Os extratos obtidos por extração assistida por ultrassom foram os que apresentaram menor valor de EC<sub>50</sub> (US<sub>EtOH</sub>: 39,496 µg/mL, US<sub>70/30</sub>: 79,8695 µg/mL e RAF-US<sub>70/30</sub>: 180,56 µg/mL). Esses valores foram inferiores ao obtido por Omena *et al.* (2012) na obtenção de extrato de semente de umbu por maceração com etanol puro (173,37 µg/mL).

**Tabela 11** - Valores de concentração efetiva ( $EC_{50}$ ) dos extratos de semente de umbu obtidos pelo método de captura do radical DPPH.

<b>Método de extração<sup>(1)</sup></b>	<b>Solvente</b>	<b><math>EC_{50}</math> (<math>\mu\text{g/mL}</math>)<sup>(2)</sup></b>
ESC15	CO <sub>2</sub>	>>5000
ESC20	CO <sub>2</sub>	>>5000
ESC30	CO <sub>2</sub>	>>5000
USHex	n-hexano	>>5000
<b>USEtOH</b>	<b>Etanol</b>	<b>39,5c <math>\pm</math> 0,6</b>
<b>US70/30</b>	<b>EtOH/H<sub>2</sub>O</b>	<b>79,9b <math>\pm</math> 0,2</b>
SOXHex	n-hexano	>>5000
SOXEtOH	Etanol	<b>185,1a <math>\pm</math> 0,17</b>
<b>RAF-US70/30</b>	<b>EtOH/H<sub>2</sub>O</b>	<b>180,6a <math>\pm</math> 4,8</b>
ESC(1H) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	>>5000
ESC-CS(2H) <sub>15</sub>	CO <sub>2</sub>	>>5000

<sup>(1)</sup> Os extratos foram obtidos nas condições descritas na Tabela 8. ESC<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa; ESC<sub>20</sub>: Extração supercrítica a 20 MPa; ESC<sub>30</sub>: Extração supercrítica a 30 MPa; US<sub>Hex</sub>: Extração assistida por ultrassom com n-hexano; US<sub>EtOH</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol; US<sub>70/30</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol/H<sub>2</sub>O (70:30); RAF-US<sub>70/30</sub>: Refinado da ESC<sub>15</sub> submetido a ultrassom com EtOH/H<sub>2</sub>O (70:30); SOX<sub>Hex</sub>: Extração por *Soxhlet* com n-hexano; SOX<sub>EtOH</sub>: Extração por *Soxhlet* com Etanol; ESC(1H)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa por 1h; ESC-CS(2H)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa com cossolvente por 2h. <sup>(2)</sup>As médias seguidas de mesmas letras numa respectiva coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

Além disso, foi possível observar que os extratos obtidos com solventes polares foram os que apresentaram menor  $EC_{50}$ , ou seja, maior atividade antioxidante. Este é mais um indício de que a atividade antioxidante dos extratos é fortemente dependente da presença de compostos polares, tendência essa também reportada por Andrade *et al.* (2012) na avaliação do potencial antioxidante de extratos de casca de café obtidos por ESC, EAU e Soxhlet pelo método de captura do radical DPPH. Em todos os métodos avaliados, o aumento da polaridade do solvente foi acompanhado de aumento do teor de CFT e aumento da atividade antioxidante.

Os valores de  $EC_{50}$  dos extratos obtidos por EAU e Soxhlet com solventes polares foram muito inferiores aos resultados obtidos por Benelli *et al.* (2010) para o antioxidante comercial hidroxitolueno butilado (BHT). Esses autores apresentaram um valor de  $EC_{50}$  de 261  $\mu\text{g/mL}$ . De acordo com Campos *et al.* (2008), extratos com valores de  $EC_{50}$  abaixo de 250  $\mu\text{g/mL}$  possuem alto potencial antioxidante.

#### **4.4.3 Correlação entre o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante**

Nos itens 4.4.1 e 4.4.2 foi evidenciado que a atividade antioxidante dos extratos é de alguma forma dependente da presença de substâncias de caráter polar. De fato, alguns estudos mostram uma clara correlação entre a atividade antioxidante e o teor de CFT, que são majoritariamente polares (PAJAK *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2014; TURUMTAY *et al.*, 2014).

Para a melhor compreensão da inter-relação entre os parâmetros de avaliação de atividade antioxidante da semente de umbu e o teor de CFT, foi realizada uma análise da correlação Pearson entre essas variáveis (Tabela 12). Essa análise foi realizada com o auxílio do *software OriginPro* 2015. No Apêndice II pode ser visualizado o gráfico de dispersão das variáveis correlacionadas.

**Tabela 12** - Coeficientes correlação de Pearson entre os parâmetros de atividade antioxidante e o teor de fenólicos totais.

	CFT	AA (%)	EC <sub>50</sub>
CFT	-	-	-
AA (%)	0,967	-	-
EC <sub>50</sub>	-0,728	-0,770	-

Todas as correlações foram estatisticamente significativas a 5%.

De acordo com a Tabela 12, verificou-se um elevado coeficiente de correlação de Pearson (0,967) entre os valores de atividade antioxidante pelo método descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico e o teor de CFT. A magnitude desse valor indica uma forte correlação entre essas variáveis. Resultado semelhante foi demonstrado por Alu'datt *et al.* (2016) que reportaram correlações positivas entre atividade antioxidante e o conteúdo de fenólicos em tomilho.

Já no que se refere à correlação entre o conteúdo de CFT e EC<sub>50</sub>, um valor negativo e de menor intensidade foi observado (-0,728), indicando uma diminuição do valor de EC<sub>50</sub> com aumento da quantidade de CFT dos extratos. Como a relação entre EC<sub>50</sub> e atividade antioxidante é inversamente proporcional, a correlação indica aumento da atividade antioxidante com o incremento do conteúdo de CFT. Dutra *et al.* (2014) indicaram comportamento semelhante entre o valor EC<sub>50</sub> e CFT para extratos de própolis.

No entanto, alguns autores obtiveram fracas correlações entre a quantidade de CFT e atividade antioxidante (BOUDJOU *et al.*, 2013; CONDELLI *et al.*, 2015; HATAMI *et al.*, 2014). A fraca correlação pode ser atribuída à presença de alguns compostos não fenólicos que podem reagir com o reagente Folin-Ciocalteu mas que não são eficazes como capturadores de radicais livres (ácido cítrico, sulfato ferroso, d-glicose), interferindo na correlação entre CFT e a atividade antioxidante de alguns extratos (TERPINC *et al.*, 2012). Além disso, diferenças nos perfis de fenólicos (tipo de fenólicos presentes e suas proporções relativas), sinergismo/antagonismo entre os

antioxidantes, tornam a atividade antioxidante total de um extrato em particular não dependente apenas da concentração de fenólicos, mas também da estrutura e da interação entre os antioxidantes (JACOBO-VELÁZQUEZ; CISNEROS-ZEVALLOS, 2009; PILUZZA; BULLITTA, 2011).

As correlações altamente significativas obtidas suportam a hipótese de que os compostos fenólicos contribuem significativamente para a capacidade antioxidante total dos extratos obtidos.

#### 4.5 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DOS EXTRATOS

O perfil de AG foi obtido por cromatografia gasosa e está apresentado na Tabela 13. Nos extratos de semente de umbu foi possível identificar (com exceção dos extratos obtidos com etanol/água) os ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico. Os ácidos oleico e linoleico foram os que apresentaram maior percentual mássico.

Como pode ser visualizado na Tabela 13, em alguns casos, observaram-se diferenças estatisticamente significativas nos teores dos AG dos extratos obtidos. Porém, essas variações são muito pequenas para serem consideradas, fazendo parte do erro experimental. Comportamento semelhante foi reportado por Guindani *et al.* (2016) na investigação do perfil de AG de torta de semente de chia.

Como pode ser visto na Tabela 14, os extratos das sementes de umbu apresentaram alto percentual de ácidos graxos insaturados (70-72%), estando os AG polinsaturados em maior proporção (37-39%). Além disso, foi possível observar uma proporção próxima entre os ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e ácidos graxos polinsaturados. A qualidade e a digestibilidade de óleos vegetais comestíveis são determinadas pela quantidade e composição em ácidos graxos insaturados, especialmente pelo conteúdo dos AG essenciais (ácidos linoleico e linolênico) (SILVA; JORGE, 2014).

Dubois *et al.* (2007) classificaram 80 óleos vegetais em relação ao perfil de AG. De acordo com essa classificação, os extratos de semente de umbu têm perfil



semelhante a vários óleos vegetais que são utilizados na indústria alimentícia, como milho, girassol, gérmen de trigo, quinoa e gergelim.

Com relação à razão entre os AG ômega 6 e 3, os extratos de semente de umbu apresentaram valores que variaram de 13,163 - 17,95. Esses valores foram bastante inferiores aos reportados por Orsavova *et al.* (2015) para vários óleos vegetais (açafreão, uva, girassol, gérmen de trigo, semente de abóbora, gergelim, farelo de arroz). A ingestão de óleos com baixas razões entre os AG ômega 6 e 3 está relacionada com a diminuição da predisposição de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e outras patologias (AZRAD; TURGEON; DEMARK-WAHNEFRIED, 2013); NEUMAN; FENSKE; KIMPLE, 2017; SIMOPOULOS, 2008).

**Tabela 13** - Perfil de ácidos graxos dos extratos de semente de umbu. (Continua)

Ensaio <sup>(1)</sup>	Teor de ácido graxo <sup>(2)</sup> (%)				
	Ácido palmítico (C16:0)	Ácido esteárico (C18:0)	Ácido oleico (C18:1)	Ácido linoleico (C18:2)	Ácido linolênico (C18:3)
ESC <sub>15</sub>	19,9 <sup>c</sup> ± 0,1	9,6 <sup>c</sup>	32,4 <sup>d</sup>	35,5 <sup>c</sup>	2,6 <sup>a</sup> ± 0,1
ESC <sub>20</sub>	<b>19,90<sup>bc</sup></b>	<b>9,46<sup>c</sup></b>	<b>32,37<sup>d</sup></b>	<b>35,77<sup>c</sup></b>	<b>2,50<sup>ab</sup></b>
ESC <sub>30</sub>	19,5 <sup>d</sup> ± 0,2	9,8 <sup>b</sup> ± 0,1	32,7 <sup>bc</sup> ± 0,1	35,6 <sup>c</sup> ± 0,2	2,4 <sup>ab</sup> ± 0,3
US <sub>Hex</sub>	19,6 <sup>cd</sup> ± 0,1	9,9 <sup>b</sup>	32,8 <sup>b</sup> ± 0,1	35,5 <sup>c</sup> ± 0,1	2,1 <sup>ab</sup> ± 0,2
US <sub>EtOH</sub>	18,5 <sup>e</sup>	8,5 <sup>d</sup> ± 0,1	33,2 <sup>a</sup> ± 0,1	37,0 <sup>a</sup> ± 0,1	2,7 <sup>a</sup> ± 0,3
US <sub>70/30</sub>	nd	nd	nd	nd	nd
SOX <sub>Hex</sub>	19,9 <sup>bc</sup> ± 0,1	9,9 <sup>b</sup> ± 0,1	32,4 <sup>d</sup> ± 0,2	35,5 <sup>c</sup> ± 0,1	2,3 <sup>ab</sup> ± 0,3
RAF-US <sub>70/30</sub>	nd	nd	nd	nd	nd

**Tabela 13 – Continuação.**

ESC(1H) <sub>15</sub>	<b>21,6<sup>a</sup> ± 0,2</b>	<b>8,3<sup>e</sup> ± 0,1</b>	<b>31,5<sup>e</sup> ± 0,1</b>	<b>36,3<sup>d</sup> ± 0,2</b>	<b>2,3<sup>ab</sup> ± 0,3</b>
ESC-CS(2H) <sub>15</sub>	18,5 <sup>e</sup>	10,8 <sup>a</sup> ± 0,1	33,1 <sup>a</sup> ± 0,1	34,9 <sup>d</sup> ± 0,1	2,7 <sup>a</sup> ± 0,1

<sup>(1)</sup> Os extratos foram obtidos nas condições descritas na Tabela 8. ESC<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa; ESC<sub>20</sub>: Extração supercrítica a 20 MPa; ESC<sub>30</sub>: Extração supercrítica a 30 MPa; US<sub>Hex</sub>: Extração assistida por ultrassom com n-hexano; US<sub>EtOH</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol; US<sub>70/30</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol/H<sub>2</sub>O (70:30); RAF-US<sub>70/30</sub>: Refinado da ESC<sub>15</sub> submetido a ultrassom com EtOH/H<sub>2</sub>O (70:30); SOX<sub>Hex</sub>: Extração por *Soxhlet* com n-hexano; SOX<sub>EtOH</sub>: Extração por *Soxhlet* com Etanol; ESC(1H)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa por 1h; ESC-CS(2H)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa com cossolvente por 2h. <sup>(2)</sup>As médias seguidas de mesmas letras numa respectiva coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.nd: não detectado.

**Tabela 14** - Teor de AG com relação ao percentual de AG saturados (AGS), AG insaturados (AGI), AG monoinsaturados (AGMI), AG polinsaturados (AGPI) e razão entre AG  $\omega$ -6/ $\omega$ -3. Teor de AG com relação ao percentual de AG saturados (AGS), AG insaturados (AGI), AG monoinsaturados (AGMI), AG polinsaturados (AGPI) e razão entre AG  $\omega$ -6/ $\omega$ -3.

Ensaio	Teor de ácido graxo <sup>(2)</sup> (%)				
	AGS	AGI	AGMI	AGPI	Razão $\omega$ -6/ $\omega$ -3
ESC <sub>15</sub>	29,4 <sup>c</sup>	70,5 <sup>b</sup>	32,3 <sup>d</sup>	38,2 <sup>bc</sup> ± 0,1	13,4
ESC <sub>20</sub>	29,3 <sup>c</sup>	70,6 <sup>b</sup>	32,4 <sup>d</sup>	38,3 <sup>bc</sup> ± 0,1	14,3 ± 0,5
ESC <sub>30</sub>	29,3 <sup>c</sup> ± 0,2	70,7 <sup>b</sup> ± 0,2	32,7 <sup>bc</sup> ± 0,1	38 <sup>cd</sup> ± 0,2	14,9 ± 2,2
US <sub>Hex</sub>	29,5 <sup>bc</sup> ± 0,1	70,5 <sup>bc</sup> ± 0,1	32,76 <sup>b</sup> ± 0,1	37,7 <sup>de</sup> ± 0,1	16,7 ± 1,8
US <sub>EtOH</sub>	27 <sup>d</sup> ± 0,1	73 <sup>a</sup> ± 0,1	33,2 <sup>a</sup> ± 0,1	39,7 <sup>a</sup> ± 0,2	13,7 ± 1,5
US <sub>70/30</sub>	nd	nd	nd	nd	nd
SOX <sub>Hex</sub>	29,8 <sup>ab</sup> ± 0,2	70,2 <sup>cd</sup> ± 0,2	32,4 <sup>d</sup> ± 0,2	37,760 <sup>de</sup> ± 0,2	15,75 ± 2,3
SOX <sub>EtOH</sub>	30,0 <sup>a</sup>	70,0 <sup>d</sup>	32,5 <sup>cd</sup> ± 0,1	37,5 <sup>e</sup>	17,95 ± 0,3
RAF-US <sub>70/30</sub>	nd	nd	nd	nd	nd

**Tabela 14 – Continuação.**

ESC(1H) <sub>15</sub>	29,9 <sup>a</sup> ± 0,1	70,1 <sup>d</sup> ± 0,1	31,5 <sup>e</sup> ± 0,0839	38,6 <sup>b</sup> ± 0,2	16,0 ± 2,7
ESC-CS(2H) <sub>15</sub>	29,3 <sup>c</sup> ± 0,1	70,7 <sup>b</sup> ± 0,1	33,1 <sup>a</sup> ± 0,1	37,6 <sup>e</sup>	13,1 ± 0,8

<sup>(1)</sup> Os extratos foram obtidos nas condições descritas na Tabela 8. ESC<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa; ESC<sub>20</sub>: Extração supercrítica a 20 MPa; ESC<sub>30</sub>: Extração supercrítica a 30 MPa; US<sub>Hex</sub>: Extração assistida por ultrassom com n-hexano; US<sub>EtOH</sub>: Extração assistida por ultrassom com Etanol; US70/30: Extração assistida por ultrassom com Etanol/H<sub>2</sub>O (70:30); RAF-US<sub>70/30</sub>: Refinado da ESC<sub>15</sub> submetido a ultrassom com EtOH/H<sub>2</sub>O (70:30); SOX<sub>Hex</sub>: Extração por *Soxhlet* com n-hexano; SOX<sub>EtOH</sub>: Extração por *Soxhlet* com Etanol; ESC(1H)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa por 1h; ESC-CS(2H)<sub>15</sub>: Extração supercrítica a 15 MPa com cossolvente por 2h. <sup>(2)</sup>As médias seguidas de mesmas letras numa respectiva coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância. nd: não detectado.

## 5 CONCLUSÕES

A investigação cinética da ESC de semente de umbu indicou que a convecção é o principal mecanismo de transferência de massa que governa o processo, sendo esse limitado pela difusão. Os modelos matemáticos de Martínez *et al.* (2003) e Sovová (1994) foram os que melhor se ajustaram aos dados experimentais.

Evidenciou-se que a semente de umbu pode ser utilizada como fonte de compostos com atividade biológica. Extratos obtidos com solventes polares apresentaram alto potencial como fontes de antioxidantes. Os valores de AA% variaram de 32,5 a 71,5 % pelo método de oxidação do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico. Já pelo método de captura do radical DPPH os valores de EC<sub>50</sub> variaram de 39,5 a 185,1. Além disso, os extratos obtidos por ultrassom foram os que apresentaram maior atividade antioxidante, em ambos os métodos. Foi evidenciado que parte considerável da capacidade antioxidante dos extratos é atribuída a presença de compostos fenólicos.

Nos extratos que foram produzidos com n-hexano, CO<sub>2</sub> e etanol foi possível identificar a presença dos ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico e linolênico. Os ácidos oleico e linoleico foram os que apresentaram maior percentual mássico. Além disso, esses extratos mostram-se ser fontes de ácidos graxos essenciais, com seu perfil semelhante ao de óleos com várias aplicações industriais.

O refinado da ESC a 15 MPa, um subproduto da ESC, mostrou-se ser viável para a obtenção de compostos fenólicos e antioxidantes.

Desta forma, a utilização das sementes de umbu como matéria-prima para obtenção de compostos bioativos mostrou-se adequada e interessante do ponto de vista ambiental, sendo capaz de aumentar o valor agregado dos resíduos da indústria de umbu.

Como sugestões para trabalhos futuros, citam-se:

- Avaliação da ESC do óleo de semente de umbu em outras condições operacionais;

- Modelagem da ESC do óleo de semente de umbu em outras condições operacionais utilizando outros modelos;
- Extrações convencionais utilizando outros solventes e suas misturas;
- Extrações com líquidos pressurizados, etanol, água e suas misturas;
- Estudo da atividade antimicrobiana e concentração mínima inibitória dos extratos;
- Estudo toxicológico
- Estudo de ampliação de escala e viabilidade econômica.

## REFERÊNCIAS

ABEDI, E.; SAHARI, M. A. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. **Food Science & Nutrition**, v. 2, n. 5, p. 443–463, 2014.

AFAQ, F.; KATIYAR, S. K. Polyphenols: skin photoprotection and inhibition of photocarcinogenesis. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 14, p. 1200–15, 2011.

AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720–1731, 2011.

ALAM, M. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 2, p. 143–152, 2013.

ALMEIDA, M. M. B.; DE SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, Â. M. C.; DO PRADO, G. M.; MAGALHÃES, C. E. de C.; MAIA, G. A.; DE LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155–2159, 2011.

ALONSO-CARRILLO, N.; AGUILAR-SANTAMARÍA, M. de los Á.; VERNON-CARTER, E. J.; JIMÉNEZ-ALVARADO, R.; CRUZ-SOSA, F.; ROMÁN-GUERRERO, A. Extraction of phenolic compounds from *Satureja macrostema* using microwave-ultrasound assisted and reflux methods and evaluation of their antioxidant activity and cytotoxicity. **Industrial Crops and Products**, v. 103, n. February, p. 213–221, 2017.

ALU'DATT, M. H.; RABABAH, T.; JOHARGY, A.; GAMMOH, S.; EREIFEJ, K.; ALHAMAD, M. N.; BREWER, M. S.; SAATI, A. A.; KUBOW, S.; RAWSHDEH, M. Extraction, optimisation and characterisation of phenolics from *Thymus vulgaris L.*: Phenolic content and profiles in relation to antioxidant, antidiabetic and antihypertensive properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 3, p. 720–730, 2016.

ANDRADE, K. S.; GONALVEZ, R. T.; MARASCHIN, M.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544–552, 2012.

ANDÚJAR, I.; RECIO, M. C.; GINER, R. M.; RÍOS, J. L. Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, 2012.

ANWAR, S.; CARROLL, J. J. **Carbon dioxide thermodynamic properties handbook**. Beverly, MA: Scrivener Publishing, 2015. v. 1

AOAC. Cereal Foods. In: **AOAC Official Methods of Analysis**. 18. ed.



Arlington, Virginia: AOAC International, 2005. p. 1050.

ARAÚJO, T. A. S.; CASTRO, V. T. N. de A.; AMORIM, E. L. C. de; ALBUQUERQUE, U. P. de. Habitat influence on antioxidant activity and tannin concentrations of *Spondias tuberosa*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 6, p. 754–759, 2012.

ASIABI, H.; YAMINI, Y.; LATIFEH, F.; VATANARA, A. Solubilities of four macrolide antibiotics in supercritical carbon dioxide and their correlations using semi-empirical models. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 62–69, 2015.

ASIMI, O. A.; SAHU, N. P.; PAL, A. K. Antioxidant capacity of crude water and ethyl acetate extracts of some Indian spices and their antimicrobial activity against *Vibrio vulnificus* and *Micrococcus luteus*. **J. Med. Plants Res**, v. 7, n. 26, p. 1907–1915, 2013.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H.; GHAFOOR, K.; NORULAINI, N. N.; OMAR, K. . . Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

AZRAD, M.; TURGEON, C.; DEMARK-WAHNEFRIED, W. Current evidence linking polyunsaturated Fatty acids with cancer risk and progression. **Frontiers in oncology**, v. 3, n. September, p. 224, 2013.

BARRALES, F. M.; REZENDE, C. A.; MARTÍNEZ, J. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) seed oil assisted by ultrasound. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 183–192, 2015.

BARTON, A. F. M. **Handbook of solubility parameters and other cohesion parameters**. Boca Raton, FL: CRC Press, 1983.

BASLI, A.; SOULET, S.; CHAHER, N.; M??RILLON, J. M.; CHIBANE, M.; MONTI, J. P.; RICHARD, T. Wine polyphenols: Potential agents in neuroprotection. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, 2012.

BENELLI, P.; RIEHL, C. A. S.; SMÂNIA, A.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 132–141, 2010.

BOTELHO, J. R. S.; SANTOS, A. G.; ARAÚJO, M. E.; BRAGA, M. E. M.; GOMES-LEAL, W.; CARVALHO JUNIOR, R. N.; MEIRELES, M. A. A.; OLIVEIRA, M. S. Copaíba (*Copaifera* sp.) leaf extracts obtained by CO<sub>2</sub> supercritical fluid extraction: Isotherms of global yield, kinetics data, antioxidant activity and neuroprotective effects. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 167–171, 2015.

BOUDJOU, S.; OOMAH, B. D.; ZAIDI, F.; HOSSEINIAN, F. Phenolics content and antioxidant and anti-inflammatory activities of legume fractions. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2–3, p. 1543–1550, 2013.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, n. 4, p. 221–247, 2011.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1–2, p. 21–33, 2005.

CALDER, P. C. P. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. **The Journal of nutrition**, v. 142, n. 3, p. 592S–599S, 2012.

CAMPOS, L. M. a. S.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, n. 2, p. 163–170, 2005.

CAMPOS, L. M. A. S. de; LEIMANN, F. V.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8413–8420, 2008.

CARVALHO, P. I. N.; OSORIO-TOBÓN, J. F.; ROSTAGNO, M. A.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Techno-economic evaluation of the extraction of turmeric (*Curcuma longa* L.) oil and ar-turmerone using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 105, p. 44–54, 2015.

CAVALCANTI, R. N.; ALBUQUERQUE, C. L. C.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of cupuassu butter from defatted seed residue: Experimental data, mathematical modeling and cost of manufacturing. **Food and Bioprocess Processing**, v. 97, p. 48–62, 2016.

CHAN, K. W.; IQBAL, S.; KHONG, N. M. H.; OOI, D. J.; ISMAIL, M. Antioxidant activity of phenolics-saponins rich fraction prepared from defatted kenaf seed meal. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 1, p. 181–186, 2014.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A. **Alternative solvents for natural products extraction**. Heidelberg: Springer, 2014.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011.

CITADIN, D. G.; CLAUMANN, C. A.; WÜST ZIBETTI, A.; MARANGONI, A.; BOLZAN, A.; MACHADO, R. A. F. Supercritical fluid extraction of *Drimys angustifolia* Miers: Experimental data and identification of the dynamic behavior of extraction curves using neural networks based on wavelets. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 81–88, 2016.

COMIM, S. R. R.; MADELLA, K.; OLIVEIRA, J. V.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction from dried banana peel (*Musa spp.*, genomic group AAB): Extraction yield, mathematical modeling, economical analysis and phase equilibria. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, n. 1, p. 30–37, 2010.

CONDELLI, N.; CARUSO, M. C.; GALGANO, F.; RUSSO, D.; MILELLA, L.; FAVATI, F. Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. **Food Chemistry**, v. 177, p. 233–239, 2015.

CRAFT, B. D.; KERRIHARD, A. L.; AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B. Phenol-Based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for Their Assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, n. 2, p. 148–173, 2012.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. 2. ed. Oxford, RU: Clarendon Press, 1975.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010.

DEL VALLE, J. M.; NÚÑEZ, G. A.; ARAVENA, R. I. Supercritical CO<sub>2</sub> oilseed extraction in multi-vessel plants. 1. Minimization of operational cost. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 197–207, 2014.

DESBOIS, A. P.; SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 6, p. 1629–1642, 2010.

DIAS, A. L. B.; ARROIO SERGIO, C. S.; SANTOS, P.; BARBERO, G. F.; REZENDE, C. A.; MARTINS, J. Effect of ultrasound on the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive compounds from dedo de moça pepper (*Capsicum baccatum* L. var. *pendulum*). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 284–294, 2016.

DUBOIS, V.; BRETON, S.; LINDER, M.; FANNI, J.; PARMENTIER, M. Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 7, p. 710–732, 2007.

DUTRA, R. P.; ABREU, B. V. de B.; CUNHA, M. S.; BATISTA, M. C. A.; TORRES, L. M. B.; NASCIMENTO, F. R. F.; RIBEIRO, M. N. S.; GUERRA, R. N. M. Phenolic Acids, Hydrolyzable Tannins, and Antioxidant Activity of Geopropolis from the Stingless Bee *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 12, p. 2549–2557, 2014.

ESQUÍVEL, M. M.; BERNARDO-GIL, M. G.; KING, M. B. Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 16, p. 43–58, 1999.

FARÍAS-CAMPOMANES, A. M.; ROSTAGNO, M. A.; COAQUIRA-QUISPE, J. J.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction of polyphenols from lees: overall extraction curve, kinetic data and composition of the extracts. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 2, n. 1, p. 45, 2015.

FARZAEI, M. H.; ABDOLLAHI, M.; RAHIMI, R. Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. **World Journal of Gastroenterology**, v. 21, n. 21, p. 6499–6517, 2015.

FERNÁNDEZ-PONCE, M. T.; PARJIKOLAEI, B. R.; LARI, H. N.; CASAS, L.; MANTELL, C.; MARTÍNEZ DE LA OSSA, E. J. Pilot-plant scale extraction of phenolic compounds from mango leaves using different green techniques: Kinetic and scale up study. **Chemical Engineering Journal**, v. 299, p. 420–430, 2016.

GALVÃO, E. L.; MARTÍNEZ, J.; OLIVEIRA, H. N. M. de; SOUSA, E. M. B. D. de. Supercritical Extraction of Linseed Oil: Economical Viability and Modeling Extraction Curves. **Chemical Engineering Communications**, v. 200, n. 2, p. 205–221, 2013.

GARCEZ, J. J.; BARROS, F.; LUCAS, A. M.; XAVIER, V. B.; FIANCO, A. L.; CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F. Evaluation and mathematical modeling of processing variables for a supercritical fluid extraction of aromatic compounds from *Anethum graveolens*. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 733–741, 2017.

GARLAPATI, C.; MADRAS, G. Solubilities of palmitic and stearic fatty acids in supercritical carbon dioxide. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 42, n. 2, p. 193–197, 2010.

GIDDINGS, J. C.; MYERS, M. N.; MCLAREN, L.; KELLER, R. a. High pressure gas chromatography of nonvolatile species. Compressed gas is used to cause migration of intractable solutes. **Science (New York, N.Y.)**, v. 162, n. 849, p. 67–73, 1968.

GIL-CHÁVEZ, G. J.; VILLA, J. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; HEREDIA, J. B.; SEPULVEDA, D.; YAHIA, E. M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. a. Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 5–23, 2013.

GROSSO, C.; COELHO, J. P.; PESSOA, F. L. P.; FARELEIRA, J. M. N. a; BARROSO, J. G.; URIETA, J. S.; PALAVRA, a. F.; SOVOVÁ, H. Mathematical modelling of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of volatile oils from aromatic plants. **Chemical Engineering Science**, v. 65, n. 11, p. 3579–3590, 2010.

GUINDANI, C.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J. M.; ROSSI, M. J.; MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of chia (*Salvia hispanica*) seed cake by means of supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 67–75, 2016.

GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. **The lipid handbook**. 3 ed ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2007. v. 53

HATAMI, T.; EMAMI, S. A.; MIRAGHAEI, S. S.; MOJARRAB, M. Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Different Extracts and Fractions from the Aerial Parts of *Artemisia biennis* Willd. **Iranian Journal of Pharmaceutical research**, v. 13, n. 2, p. 551–558, 2014.

HAYNES, W. M.; LIDE, D. R.; BRUNO, T. J. **Handbook of chemistry and physics**. 95. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2014.

HELENO, S. A.; DIZ, P.; PRIETO, M. A.; BARROS, L.; RODRIGUES, A.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. F. R. Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus* L. by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1054–1063, 2016.

HERRERO, M.; MENDIOLA, J. A.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of chromatography. A**, v. 1217, n. 16, p. 2495–511, 16 abr. 2010.

HERRERO, M.; SÁNCHEZ-CAMARGO, A. del 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, set. 2015.

HEZAVE, A. Z.; MOWLA, A.; ESMAEILZADEH, F. Cetirizine solubility in supercritical CO<sub>2</sub> at different pressures and temperatures. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 58, n. 2, p. 198–203, 2011.

HUANG, Z.; SHI, X.; JIANG, W. Theoretical models for supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 2–26, 2012.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Correlations of antioxidant activity against phenolic content revisited: A new approach in data analysis for food and medicinal plants. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 9, p. 107–113, 2009.

JESUS, S. P.; GRIMALDI, R.; HENSE, H. Recovery of  $\gamma$ -oryzanol from rice bran oil byproduct using supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 149–155, 2010.

JOKIĆ, S. .; SVILOVIĆ, S. .; ZEKOVIĆ, Z. .; VIDOVIĆ, S. . Mathematical modelling of soybean oil solubility in supercritical carbon dioxide. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 5, p. 1031–1037, 2011.

JULIANO, P.; BAINCZYK, F.; SWIERGON, P.; SUPRIYATNA, M. I. M.; GUILLAUME, C.; RAVETTI, L.; CANAMASAS, P.; CRAVOTTO, G.; XU, X. Q. Extraction of olive oil assisted by high-frequency ultrasound standing waves. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 104–114, 2017.

KAUR, N.; CHUGH, V.; GUPTA, A. K. Essential fatty acids as functional components of foods- a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2289–2303, 2012.

KERTON, F. M. **Alternative solvents for green chemistry**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2009. v. 131

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A.; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, v. 18, n. 2, p. 2328–2375, 2013.

KHURANA, S.; VENKATARAMAN, K.; HOLLINGSWORTH, A.; PICHE, M.; TAI, T. C. Polyphenols: Benefits to the cardiovascular system in health and in aging. **Nutrients**, v. 5, n. 10, p. 3779–3827, 2013.

KITZBERGER, C. S. G.; LOMONACO, R. H.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; CORREIA, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of shiitake oil: Curve modeling and extract composition. **Journal of Food Engineering**, v. 90, n. 1, p. 35–43, 2009.

KOŞAR, M.; DORMAN, H. J. D.; HILTUNEN, R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, p. 525–533, 2005.

LALL, R. K.; SYED, D. N.; ADHAMI, V. M.; KHAN, M. I.; MUKHTAR, H. Dietary polyphenols in prevention and treatment of prostate cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 2, p. 3350–3376, 2015.

LEE, C. A.; TANG, M.; HO, S. L.; CHEN, Y. P. Solubilities of chlormezanone, metaxalone and methocarbamol in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 11–16, 2014.

LI, A. N.; LI, S.; ZHANG, Y. J.; XU, X. R.; CHEN, Y. M.; LI, H. Bin. Resources and biological activities of natural polyphenols. **Nutrients**, v. 6, n. 12, p. 6020–6047, 2014.

LI, H.; WU, J.; REMPEL, C. B.; THIYAM, U. Effect of Operating Parameters on Oil and Phenolic Extraction Using Supercritical CO<sub>2</sub>. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 9, p. 1081–1089, 2010.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.

MARTIN, L.; SKINNER, C.; MARRIOTT, R. J. Supercritical extraction of oil seed rape: Energetic evaluation of process scale. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 105, p. 55–59, 2015.

MARTÍNEZ, J. L. **Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, a R.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. a. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, p. 1057–1063, 2003.

MATTHÄUS, B. Antioxidant Activity of Extracts Obtained from Residues of. **Journal**

of agricultural and food chemistry, v. 50, p. 11–14, 2002.

MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S.; RIEHL, C. a. S.; SMANIA, A.; SMANIA, F. a.; MARTÍNEZ, J. Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: Antioxidant and antimicrobial activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 48–56, 2012.

MEIRELES, M. A. A. **Extracting bioactive compounds for food products - theory and applications**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2009.

MELO, M. M. R.; SILVESTRE, A. J. D.; SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 115–176, 2014.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C. dos; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method . *Phytother Res Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free*. v. 130, n. August, p. 127–130, 2015.

MITTAL, R.; TAVANANDI, H. A.; MANTRI, V. A.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phycobiliproteins from marine macro-algae, *Gelidium pusillum* (*Rhodophyta*). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 92–103, 2017.

MOJZER, E. B.; HRNCIC, M. K.; SKERGET, M.; KNEZ, Z.; BREN, U. Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. **Molecules**, v. 21, n. 7, 2016.

MONROY, Y. M.; RODRIGUES, R. A. F.; SARTORATTO, A.; CABRAL, F. A. Influence of ethanol, water, and their mixtures as co-solvents of the supercritical carbon dioxide in the extraction of phenolics from purple corn cob (*Zea mays* L.). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 118, p. 11–18, 2016.

MUKHOPADHYAY, M. **Natural extracts using supercritical carbon dioxide**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2000.

MURGA, R.; SANZ, M. T.; BELTRÁN, S.; CABEZAS, J. L. Solubility of some phenolic compounds contained in grape seeds, in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 23, n. 2, p. 113–121, 2002.

MURGA, R.; SANZ, M. T.; BELTRÁN, S.; CABEZAS, J. L. Solubility of three hydroxycinnamic acids in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 27, n. 3, p. 239–245, 2003.

MURGA, R.; SANZ, M. T.; BELTRÁN, S.; CABEZAS, J. L. Solubility of syringic and vanillic acids in supercritical carbon dioxide. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 49, n. 4, p. 779–782, 2004.

NDHLALA, A. R.; MOYO, M.; VAN STADEN, J. Natural antioxidants: Fascinating or mythical biomolecules? **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 6905–6930, 2010.

NETO, E. M. F. L.; PERONI, N.; MARANHÃO, C. M. C.; MACIEL, M. I. S.; ALBUQUERQUE, U. P. D. Physical and Chemical Characterization of *Spondias tuberosa* Arruda Fruit from Different Caatinga Landscapes in Altinho-PE. **The Natural Products Journal**, v. 2, n. 3, p. 156–160, 2012.

NEUMAN, J. C.; FENSKE, R. J.; KIMPLE, M. E. Dietary polyunsaturated fatty acids and their metabolites: Implications for diabetes pathophysiology, prevention, and treatment. **Nutrition and Healthy Aging**, v. Preprint, n. Preprint, p. 1–13, 2017.

NIST. **NIST Chemistry WebBook**. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/>>. Acesso em: 28 jan. 2017.

NÚÑEZ, G. A.; DEL VALLE, J. M. Supercritical CO<sub>2</sub> oilseed extraction in multi-vessel plants. 2. Effect of number and geometry of extractors on production cost. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 324–334, 2014.

OLIVEIRA, D. A.; ANGONESE, M.; GOMES, C.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55–62, 2016.

OLORUNJUWON, O. J.; GBADEGESIN, M. A.; ODUNOLA, O. A. In vitro free radical scavenging and antioxidant properties of ethanol extract of *Terminalia glaucescens*. **Pharmacognosy Res**, v. 7, n. 1, p. 49–56, 2015.

OMENA, C. M. B. O.; VALENTIM, I. B.; GUEDES, G.; RABELO, L. A.; TREVISAN, M. T. S.; DA COSTA, J. G.; FERREIRA, R. C. S.; SANT'ANA, A. E. G.; GOULART, M. O. F. Antioxidant, anti-acetylcholinesterase and cytotoxic activities of ethanol extracts of peel, pulp and seeds of exotic Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 334–344, 2012.

OPARA, E. I.; CHOCHAN, M. Culinary herbs and spices: their bioactive properties, the contribution of polyphenols and the challenges in deducing their true health benefits. **International journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 19183–19202, 2014.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10–36, 2015.

ORSAVOVA, J.; MISURCOVA, L.; AMBROZOVA, J. V.; VICHA, R.; MLCEK, J. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 6, p. 12871–12890, 2015.

ÖZKAL, S. G.; YENER, M. E. Supercritical carbon dioxide extraction of flaxseed oil: Effect of extraction parameters and mass transfer modeling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 76–80, 2016.

PAJAŁ, P.; SOCHA, R.; GAŁKOWSKA, D.; ROŻNOWSKI, J.; FORTUNA, T. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. **Food Chemistry**, v. 143, p. 300–306, 2014.



PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2, n. 5, p. 270–8, 2009.

PAULA, B.; CARVALHO FILHO, C. D.; MATTA, V. M.; MENEZES, J. S.; LIMA, P. C.; PINTO, C. O.; CONCEIÇÃO, L. E. M. G. Produção e caracterização físico-química de fermentado de umbu. **Ciência Rural**, v. 42, n. 9, p. 1688–1693, 2012.

PEREIRA, C. G.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 3, p. 340–372, 2010.

PEREIRA JÚNIOR, L. R.; ANDRADE, A. P. de; ARAÚJO, K. D.; BARBOSA, A. da S.; BARBOSA, F. M. Espécies da Caatinga como Alternativa para o Desenvolvimento de Novos Fitofármacos Caatinga Species as an Alternative to the Development of New Phytochemicals. **Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 4, p. 509–520, 2014.

PERRIER, A.; DELSART, C.; BOUSSETTA, N.; GRIMI, N.; CITEAU, M.; VOROBIEV, E. Effect of ultrasound and green solvents addition on the oil extraction efficiency from rapeseed flakes. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 39, n. December 2016, p. 58–65, 2017.

PILUZZA, G.; BULLITTA, S. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. **Pharmaceutical biology**, v. 49, n. 3, p. 240–7, 2011.

PRADO, I. M.; PRADO, G. H. C.; PRADO, J. M.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical CO<sub>2</sub> and low-pressure solvent extraction of mango (*Mangifera indica*) leaves: Global yield, extraction kinetics, chemical composition and cost of manufacturing. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 4, p. 656–664, 2013.

PRADO, J. M.; DALMOLIN, I.; CARARETO, N. D. D.; BASSO, R. C.; MEIRELLES, A. J. A.; VLADIMIR OLIVEIRA, J.; BATISTA, E. A. C.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction of grape seed: Process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 2, p. 249–257, 2012.

RAI, A.; MOHANTY, B.; BHARGAVA, R. Fitting of broken and intact cell model to supercritical fluid extraction (SFE) of sunflower oil. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 38, p. 32–40, 2016.

RAZALI, N.; MAT-JUNIT, S.; ABDUL-MUTHALIB, A. F.; SUBRAMANIAM, S.; ABDUL-AZIZ, A. Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. **Food Chemistry**, v. 131, n. 2, p. 441–448, 2012.

RÊGO JÚNIOR, N. O.; FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D. de; SILVA, L. C.; GUALBERTO, S. A.; PEREIRA, M. L. A.; SILVA, M. V. da. Compostos bioativos e atividade antioxidante de extratos brutos de espécies vegetais da caatinga. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 1, p. 50–57, 2011.

REIS, P. M. C. L.; DARIVA, C.; VIEIRA, G. Â. B.; HENSE, H. Extraction and evaluation

of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 116–123, 2016.

ROSA, A. B. S.; MARCENEIRO, S.; BRAGA, M. E. M.; DIAS, A. M. a.; DE SOUSA, H. C. Solubility of all-trans retinoic acid in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 70–78, 2015.

ROSTAGNO, M. A.; PRADO, J. M. **Natural product extraction: principles and applications**. Cambridge, RU: RSC Publishing, 2013.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010.

RUFINO, M. S.; FERNANDES, F. A. N.; ALVES, R. E. A.; BRITO, E. S. de. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 693–695, 2009.

SALGIN, U.; DÖKER, O.; ÇALIMLI, A. Extraction of sunflower oil with supercritical CO<sub>2</sub>: Experiments and modeling. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, n. 3, p. 326–331, 2006.

SALVADOR, A. A.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J. M.; FERREIRA, S. R. S. Increasing the value of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] cake by means of oil extraction and antioxidant activity evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 215–222, 2016.

SANTANA-MÉRIDAS, O.; GONZÁLEZ-COLOMA, A.; SÁNCHEZ-VIOQUE, R. Agricultural residues as a source of bioactive natural products. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 4, p. 447–466, 2012.

SANTOS, K. A.; KLEIN, E. J.; GAZIM, Z. C.; GONÇALVES, J. E.; CARDOZO-FILHO, L.; CORAZZA, M. L.; DA SILVA, E. A. Wood and industrial residue of candeia (*Eremanthus erythropappus*): Supercritical CO<sub>2</sub> oil extraction, composition, antioxidant activity and mathematical modeling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 114, p. 1–8, 2016.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SHI, J. **Functional food ingredients and nutraceuticals**. 2 Ed ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2016.

SHIRSATH, S. R.; SABLE, S. S.; GAIKWAD, S. G.; SONAWANE, S. H.; SAINI, D. R.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of curcumin from *Curcuma amada* using ultrasound assisted approach: Effect of different operating parameters. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, n. December 2016, p. 437–445, 2017.

SILVA, A. R. A.; MORAIS, S. M.; MARQUES, M. M. M.; LIMA, D. M.; SANTOS, S. C. C.; ALMEIDA, R. R.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F. Antiviral activities of extracts and phenolic components of two *Spondias* species against dengue virus. **J .Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.**, v. 17, n. 4, p. 406–413, 2011.

SILVA, L. P. S.; MARTÍNEZ, J. Mathematical modeling of mass transfer in supercritical fluid extraction of oleoresin from red pepper. **Journal of Food Engineering**, v. 133, p. 30–39, 2014.

SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, 2016.

SILVA, A. C. da; JORGE, N. Bioactive compounds of the lipid fractions of agro-industrial waste. **Food Research International**, v. 66, p. 493–500, dez. 2014.

SILVA, A. R. A. da; MORAIS, S. M. de; MARQUES, M. M. M.; OLIVEIRA, D. F. de; BARROS, C. C.; ALMEIDA, R. R. de; VIEIRA, Í. G. P.; GUEDES, M. I. F. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of two *Spondias* species from Northeastern Brazil. **Pharmaceutical biology**, v. 50, n. 6, p. 740–746, 2012.

SIMOPOULOS, A. The Importance of the Omega-6 / Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. **Experimental Biology and Medicine**, v. 233, n. 6, p. 674–688, 2008.

SIQUEIRA, E. M. da S.; FÉLIX-SILVA, J.; DE ARAÚJO, L. M. L.; FERNANDES, J. M.; CABRAL, B.; GOMES, J. A. dos S.; ROQUE, A. de A.; TOMAZ, J. C.; LOPES, N. P.; FERNANDES-PEDROSA, M. de F.; GIORDANI, R. B.; ZUCOLOTTO, S. M. *Spondias tuberosa* (*Anacardiaceae*) leaves: profiling phenolic compounds by HPLC-DAD and LC-MS/MS and in vivo anti-inflammatory activity. **Biomedical Chromatography**, v. 30, n. 10, p. 1656–1665, 2016.

SOARES, J. F.; ZABOT, G. L.; TRES, M. V.; LUNELLI, F. C.; RODRIGUES, V. M.; FRIEDRICH, M. T.; PAZINATTO, C. A.; BILIBIO, D.; MAZUTTI, M. A.; CARNIEL, N.; PRIAMO, W. L. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of black poplar (*Populus nigra* L.) extract: Experimental data and fitting of kinetic parameters. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 117, p. 270–278, 2016.

SOUZA, V. R. de; PEREIRA, P. A. P.; SILVA, T. L. da T.; LIMA, L. C. de O.; PIO, R.; QUEIROZ, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. **Food Chemistry**, v. 156, p. 362–368, 2014.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO<sub>2</sub>—I. Modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p. 409–414, 1994.

SOVOVÁ, H. Modeling the supercritical fluid extraction of essential oils from plant materials. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 27–33, 2012.

TABERNERO, A.; VIEIRA DE MELO, S. A. B.; MAMMUCARI, R.; MARTÍN DEL

VALLE, E. M.; FOSTER, N. R. Modelling solubility of solid active principle ingredients in sc-CO<sub>2</sub> with and without cosolvents: A comparative assessment of semiempirical models based on Chrastil's equation and its modifications. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 93, p. 91–102, 2014.

TAHER, H.; AL-ZUHAIR, S.; AL-MARZOUQI, A. H.; HAIK, Y.; FARID, M. Mass transfer modeling of *Scenedesmus sp.* lipids extracted by supercritical CO<sub>2</sub>. **Biomass and Bioenergy**, v. 70, p. 530–541, 2014.

TAMURA, K.; ALWI, R. S. Solubility of anthraquinone derivatives in supercritical carbon dioxide. **Dyes and Pigments**, v. 113, p. 351–356, 2015.

TAN, J. B. L.; LIM, Y. Y. Critical analysis of current methods for assessing the in vitro antioxidant and antibacterial activity of plant extracts. **Food Chemistry**, v. 172, p. 814–822, 2015.

TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. *Robusta*) husks using supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53–60, 2011.

TERPINC, P.; ČEH, B.; ULRIH, N. P.; ABRAMOVIČ, H. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 39, n. 1, p. 210–217, 2012.

THORMAR, H. **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. West Sussex: Wiley, 2011.

TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100–109, 2015.

TSAI, C. C.; LIN, H. M.; LEE, M. J. Solubility of niflumic acid and celecoxib in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 17–23, 2014.

TURUMTAY, E. A.; ISLAMOĞLU, F.; ÇAVUŞ, D.; ŞAHİN, H.; TURUMTAY, H.; VANHOLME, B. Correlation between phenolic compounds and antioxidant activity of Anzer tea (*Thymus praecox* Opiz subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*). **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 687–694, 2014.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300–312, 2006.

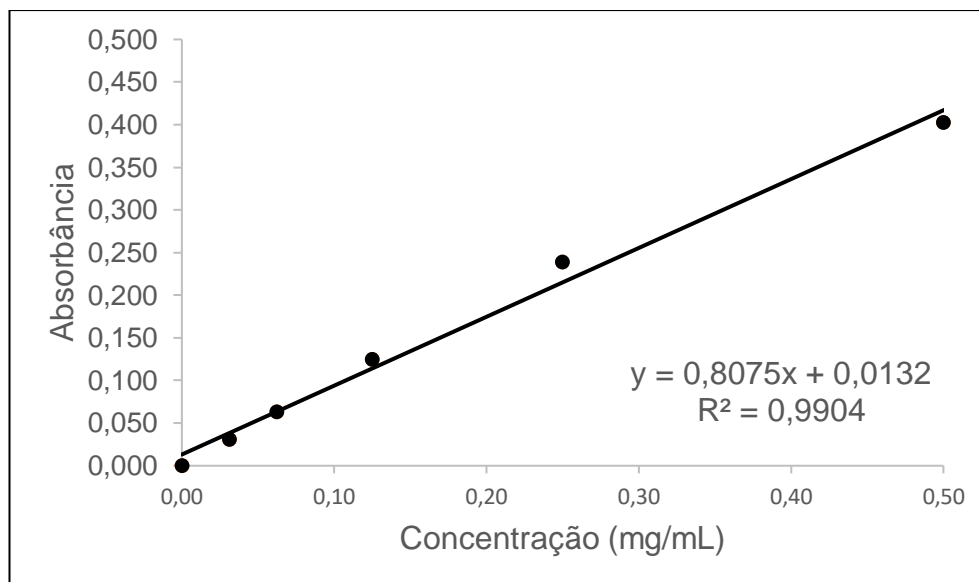
ZEKOVIĆ, Z.; BUŠIĆ, A.; KOMES, D.; VLADIĆ, J.; ADAMOVIĆ, D.; PAVLIĆ, B. Coriander seeds processing: Sequential extraction of non-polar and polar fractions using supercritical carbon dioxide extraction and ultrasound-assisted extraction. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, p. 218–227, 2015.

ZERAIK, M. L.; QUEIROZ, E. F.; MARCOURT, L.; CICLET, O.; CASTRO-GAMBOA, I.; SILVA, D. H. S.; CUENDET, M.; DA SILVA BOLZANI, V.; WOLFENDER, J. L. Antioxidants, quinone reductase inducers and acetylcholinesterase inhibitors from *Spondias tuberosa* fruits. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 396–405, 2016.

ZIELINSKI, A. A. F.; ÁVILA, S.; ITO, V.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G.; HAMINIUK, C. W. I. The Association between Chromaticity, Phenolics, Carotenoids, and In Vitro Antioxidant Activity of Frozen Fruit Pulp in Brazil: An Application of Chemometrics. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 4, 2014.

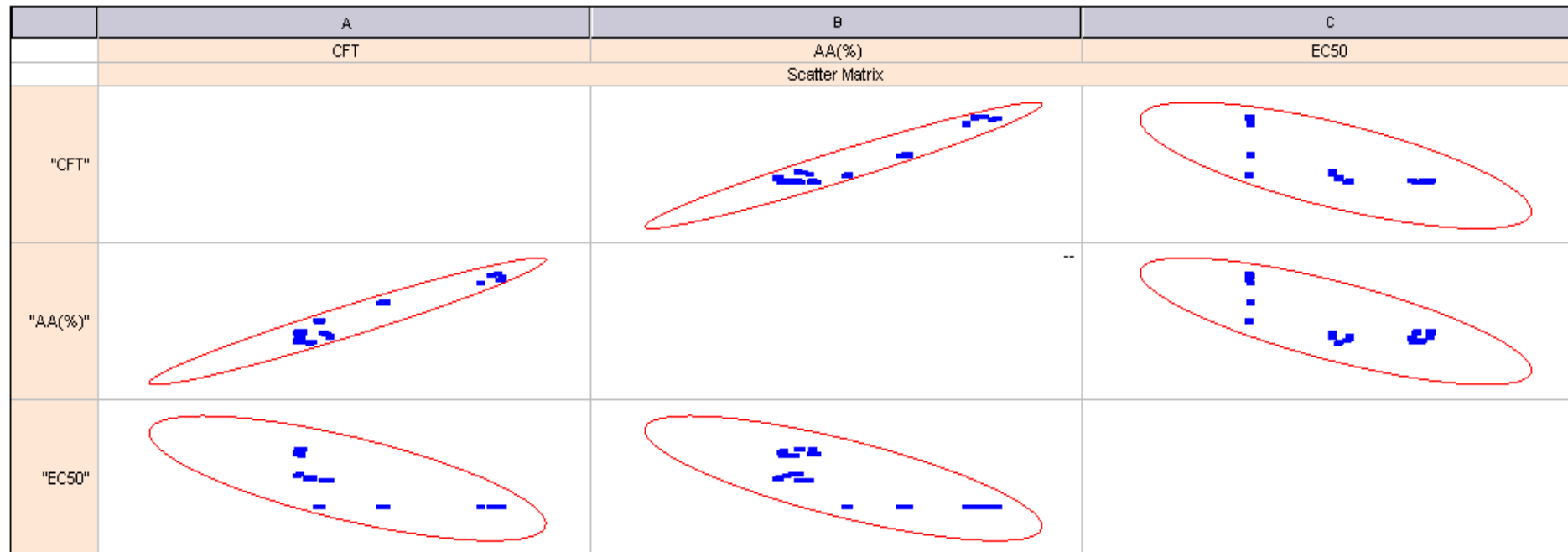
## APÊNDICES

## APÊNDICE A – Curva padrão de Ácido gálico



**Figura 24** - Curva padrão de ácido gálico utilizada no cálculo de CFT.

## APÊNDICE B – Gráficos de dispersão da análise de correlação Pearson



**Figura 25** - Gráficos de dispersão da análise de correlação de Pearson.