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

VICTOR DE SOUZA PEREIRA

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS FOLHAS DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) UTILIZANDO ÁGUA PRESSURIZADA E TÉCNICAS CONVENCIONAIS

Recife
2021

VICTOR DE SOUZA PEREIRA

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS FOLHAS DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) UTILIZANDO ÁGUA PRESSURIZADA E TÉCNICAS CONVENCIONAIS

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

Área de concentração: Engenharia dos processos químicos e bioquímicos.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Danielski

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Stragevitch

Recife

2021

Catalogação na fonte:

Bibliotecária Josias Machado, CRB-4 / 1690

P436e Pereira, Victor de Souza.

Extração de compostos bioativos das folhas de cajazeira (*Spondias mombin* L.) utilizando água pressurizada e técnicas convencionais / Victor de Souza Pereira. – 2021.

86 f.: il., figs., tabs.abrev. e sigl.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Danielski.

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Stragevitch.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Engenharia química. 2. Extração. 3. *Spondias mombin*. 4. Água Pressurizada. 5. Técnicas convencionais. 6. Compostos bioativos. I. Danielski, Leandro (Orientador). II. Stragevitch, Luiz (Coorientador). III. Título.

UFPE

660.2 CDD (22. ed.) BCTG/2022-44

VICTOR DE SOUZA PEREIRA

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS FOLHAS DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) UTILIZANDO ÁGUA PRESSURIZADA E TÉCNICAS CONVENCIONAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Tecnologia e Geociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química. Área de concentração: Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Aprovado em: 27 / 08 / 2021.

BANCA EXAMINADORA

_____

Profa. Dra. Patrícia Moreira Azoubel (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Dr. Diego Márlon Ferro (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profa. Dra. Magda Rhayanny Assunção Ferreira (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Jesus Cristo, aquele que é impossível comparar sua inteligência e que por meio da sua graça transmite a nós.

À família, pai, mãe e irmã que me fortalecem em todas as circunstâncias.

Ao Prof. Leandro Danielski por toda amizade desenvolvida e sobretudo à orientação.

Ao Prof. Luiz Stragevitch pela sua solicitude.

Aos membros da banca examinadora pelas sugestões e comentários.

Ao Laboratório de Combustíveis da UFPE, por toda estrutura.

Ao laboratório parceiro, Laboratório de Farmacognosia da UFPE nas pessoas do Prof. Luiz Alberto Lira, Magda Rhayanny Assunção Ferreira e Janaína Carla Barbosa Machado pela realização das análises.

Aos que me ajudaram e contribuíram de alguma forma como minha amiga e namorada Juliane Pereira e o meu amigo Jonas da Silva.

Aos colegas da pós-graduação por toda amizade e conhecimento compartilhado.

A todos os professores da pós-graduação que transmitiram seus conhecimentos para minha formação.

Ao PPGEQ pelo apoio.

À CAPES pelo fomento da pesquisa.

“Ciência é uma construção do conhecimento humano e suas tecnologias”. (SOUZA; SILVA, 2013, p. 639).

RESUMO

Metabólitos secundários são substâncias presentes em plantas, frutas e vegetais, com inúmeros ações biológicas. Esses compostos naturais apresentam efeitos profiláticos e terapêuticos, além de terem aplicação como corantes e conservantes de alimentos. Essas substâncias podem ser encontradas em folhas de *Spondias mombin* L., popularmente conhecida como cajazeira ou taperebá. A utilização de todas as partes da planta, sobretudo o uso das folhas, tem despertado o interesse de diversos estudos. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi extrair e caracterizar compostos bioativos das folhas de cajazeira, comparando técnicas de extração convencionais e não convencionais. O material vegetal foi caracterizado em teor de umidade e granulometria. A obtenção dos extratos brutos das folhas de cajazeira foi realizada por três diferentes técnicas de extração, sendo duas destas utilizando pressão atmosférica (turbólise e ultrassom) e uma técnica a alta pressão (extração com água pressurizada). Os resultados demonstraram que a extração por turbólise utilizando a mistura hidroetanólica na proporção de 70:30 (v/v) permitiu obter extratos em maior rendimento e maior teor de compostos fenólicos totais (CFT), sendo 1,30 % ± 0,042 e 79,29 ± 0,006 miligramas equivalentes de ácido gálico por gramas de extrato (mg EAG/g) extrato, respectivamente. Por meio da análise cromatografia líquida foi possível identificar e quantificar compostos bioativos como o ácido gálico, elágico, clorogênico e a rutina. A extração por turbólise utilizando o etanol como solvente foi a mais seletiva para a rutina. A extração assistida por ultrassom com etanol foi mais seletiva para o ácido clorogênico e a rutina. Já a extração com água pressurizada (EAP) demonstrou ser mais seletiva para o ácido gálico nas condições de pressão e temperaturas estudadas, com melhor resultado na condição de 80ºC e 200bar. O estudo cinético da extração com água pressurizada das folhas de cajazeira indicou que os maiores teores CFT foram extraídos nos primeiros 20 minutos do processo. O modelo matemático de Martínez foi o que se ajustou melhor aos dados, com menor erro quadrático, sendo $4{,}136 \times 10^{-5}$. No reprocessamento dos resíduos da EAP foram obtidos teores de CFT entre 1,663 ± 0,015 e 2,047 ± 0,006 mg EAG/g extrato. Os resultados indicam que as folhas de cajazeira possuem potencial para o uso fitoterápico devido ação das suas substâncias, ou seja, elas contêm um conjunto de compostos ativos para usos medicinais. As técnicas de extração foram satisfatórias para a produção de extratos que são fontes de compostos bioativos.

Palavras-chave: Extração; *Spondias mombin*; Água pressurizada; Técnicas convencionais; Compostos bioativos.

ABSTRACT

Secondary metabolites are substances present in plants, fruits, and vegetables, with numerous biological actions. This class of compounds has prophylactic and therapeutic effects, in addition to having application as food coloring and preservatives. These substances can be found in the leaves of *Spondias mombin* L., popularly known as cajazeira or taperebá. The compounds naturally present in cajazeira are associated with disease prevention. The use of all parts of the plant, especially the use of leaves, has attracted the interest of several studies. Thus, the objective of this work was to extract and characterize bioactive compounds from the cajazeira leaves, comparing conventional and unconventional extraction techniques. The plant material was characterized in terms of moisture content and granulometry. The obtainment of crude extracts from the cajazeira leaves was performed by three different extraction techniques, two of which using atmospheric *pressure* (turbo*l*ysis and ultrasound) and a high-pressure technique (extraction with pressurized water). The results showed that the extraction by turbolysis using a hydroethanolic mixture in the proportion of 70:30 (v/v) allowed to obtain extracts with higher yield and higher content of total phenolic compounds (CFT), being 1.30 % ± 0.042 e 79.29 ± 0,006 equivalent milligrams of gallic acid per gram of extract (mg EAG/g extract), respectively. Through chromatographic analysis, it was possible to identify and quantify bioactive compounds such as gallic, ellagic, chlorogenic, and rutin acid. The extraction by turbolysis using ethanol as a solvent was the most selective for rutin. Ultrasound-assisted extraction with ethanol was more selective for chlorogenic acid and rutin. On the other hand, the extraction with pressurized water (EAP) proved to be more selective for gallic acid under the conditions of pressure and temperatures studied, with better results under the conditions of 80ºC and 200bar. The kinetic study of the pressurized water extraction of cajazeira leaves indicated that the highest CFT contents were extracted in the first 20 minutes of the process. Martínez's mathematical model was the one that best fit the data, with the smallest squared error, being $4.136x10^{-5}$. In the reprocessing of EAP residues, CFT contents between 1.663 ± 0,015 e 2.047 ± 0,006 mg EAG/g extract were obtained. The results indicate that cajazeira leaves have the potential for phytotherapeutic use, due to their composition. The extraction techniques were satisfactory for the production of extracts that are sources of bioactive compounds.

Keywords: Extraction; *Spondias mombin*; Pressurized water; Conventional techniques; Bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Árvore cajazeira (*Spondias mombin* L*)*, folhas e frutos 18

Figura 2 – Diagrama de fases da água 29

Figura 3 – Gráfico dos valores da constante dielétrica da água em função da temperatura nas pressões de 0,1, 10, 20 e 30 MPa 31

Figura 4 – Sistema de extração no leito 35

Figura 5 – Curva geral de extração 36

Figura 6 – Curva geral de extração por fluido supercrítico da mangaba com rendimento da massa acumulada do extrato. Condições: 300bar, 60°C e fluxo de CO_2 de 8,33 $g \cdot min^{-1}$..... 37

Figura 7 – Rendimento de compostos fenólicos (admensional) do extrato bruto da EAP das cascas de uvas. Dados experimentais e curvas dos modelos..... 37

Figura 8 – Fluxograma das etapas do trabalho 41

Figura 9 – Equipamento utilizado para realização da EAP 44

Figura 10 – Seletividade dos compostos extraídos pelas técnicas de extração (a) por turbólise, (b) assistida por ultrassom e (c) com água pressurissada. 59

Figura 11 – Teor de CFT acumulado em função do tempo para a EAP das folhas de cajazeira. Condições: 80ºC, 200bar, vazão de 3 mL/min e 60 minutos de extração 60

Figura 12 – Curva experimental de extração e curvas ajustadas aos modelos de Martínez e Esquivel para EAP das folhas de cajazeira. Condições: 80ºC, 200bar, vazão de 3 mL/min e 60 minutos de extração …….. 62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Trabalhos em que a água subcrítica foi utilizada para obtenção de compostos de interesse a partir de diferentes matérias-primas vegetais. 30

Tabela 2 – Trabalhos em que a água subcrítica foi utilizada para obtenção de compostos bioativos a partir de diferentes fontes vegetais 32

Tabela 3 – Condições de temperatura e pressão dos ensaios da EAP..... 45

Tabela 4 – Caracterização das folhas de cajazeira 50

Tabela 5 – Rendimento dos extratos da folha de cajazeira obtidos por diferentes técnicas de extração 51

Tabela 6 – Compostos fenólicos totais dos extratos da folha de cajazeira obtidos por diferentes técnicas de extração 54

Tabela 7 – Perfil de compostos fenólicos e suas frações nos extratos da folha de cajazeira obtidas por CLAE 56

Tabela 8 – Parâmetros ajustáveis dos modelos de Martínez e Esquível 62

Tabela 9 – Resíduos sólidos reprocessados da EAP dos extratos das folhas de cajazeira 64

LISTA DE SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
CER	Taxa de Extração Constante
CFT	Compostos Fenólicos Totais
CFT_{Acm}	Compostos Fenólicos Totais Acumulado
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DIF	Período de Difusão
EAG	Equivalente de Ácido Gálico
EAP	Extração com Água Pressurizada
EAU	Extração Assistida por Ultrassom
EQM	Erro Quadrático Médio
ET	Extração por Turbólise
FER	Taxa de Extração Decrescente
IPA	Instituto Agronômico de Pernambuco
LAC	Laboratório de Combustíveis
LATESC	Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica da Universidade Federal de Santa Catarina
LITPEG	Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo, Gás e Biocombustíveis
RND (%)	Rendimento (%)
RS	Resíduo Sólido
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 16

2.1 PLANTAS MEDICINAIS 16

2.2. FOLHAS DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) 17

2.3 EXTRATOS DA FOLHA DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.) 18

2.4 PROCESSO DE EXTRAÇÃO 23

2.4.1 Extração por turbólise 26

2.4.2 Extração assistida por ultrassom 27

2.4.3 Extração com água subcrítica pressurizada 28

2.5 AVALIAÇÃO CINÉTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA NA EXTRAÇÃO COM ÁGUA PRESSURIZADA 35

2.5.1 Modelo de Martínez 38

2.5.2 Modelo Esquível 39

3 MATERIAIS E MÉTODOS 41

3.1 MATERIAL VEGETAL 41

3.2 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL..... 42

3.2.1 Teor de umidade (%) 42

3.2.2 Análise granulométrica 42

3.3 EXTRATOS TOTAIS 42

3.3.1 Extração por turbólise 42

3.3.2 Extração por ultrassom 43

3.3.3 Extração com água pressurizada 43

3.4 RENDIMENTO DOS EXTRATOS 45

3.5 ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS 45

3.5.1 Compostos Fenólicos Totais (CFT) 45

3.5.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) 46

3.6 DETERMINAÇÃO DA SELETIVIDADE DOS COMPOSTOS 47

3.7 AVALIAÇÃO CINÉTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA DA EAP 48

3.8 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO SÓLIDO REPROCESSADO DA EAP..... 48

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA 49

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 50
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL 50
4.2 RENDIMENTOS DOS EXTRATOS 51
4.3 ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS 53
4.3.1 Compostos Fenólicos Totais (CFT) 54
4.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) 56
4.4 DETERMINAÇÃO DA SELETIVIDADE DOS COMPOSTOS 58
4.5. AVALIAÇÃO CINÉTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA DA EAP..... 60
4.6. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO SÓLIDO REPROCESSADO DA EAP..... 63
5 CONCLUSÕES 66
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 67
REFERÊNCIAS 68

1. INTRODUÇÃO

A botânica tem sido constante objeto de pesquisas, sobretudo no Brasil, país de rica flora. A biodiversidade brasileira não só desperta atenção e interesse por sua extraordinária variedade, mas tem surpreendido pesquisadores e as agências de fomento, à medida que pesquisas novas são desenvolvidas, em razão de substâncias que são encontradas nas plantas. Estas substâncias encontradas podem ser utilizadas em inúmeras aplicações, como em produtos relacionados a saúde, higiene ou de uso estético. Elas podem exigir para sua obtenção desde o uso de processos artesanais simples até o uso de tecnologias avançadas (DE SOUZA FONTES; ELIAS; AOYAMA, 2019)

Algumas substâncias obtidas a partir de plantas, frutas e vegetais conceitua-se como metabólitos secundários devido aos seus inúmeros efeitos biológicos. Dependendo da concentração utilizada, essas moléculas bioativas podem proporcionar efeitos profiláticos e terapêuticos, agem como corantes e até mesmo como conservantes de alimentos, por meio das ações antioxidantes e antimicrobianas. Tais características melhoram a aparência e as propriedades nutricionais dos alimentos, agregando maior valor a eles (MARTINS; FERREIRA, 2017).

O emprego de plantas na área da medicina existe há alguns milênios, sendo difundido entre vários tipos de povos e culturas. Com isso, relatos e observações baseados em crenças populares foram e têm sido fundamental para o estudo contínuo da produção de medicamentos utilizando vegetais, impulsionando a descoberta de compostos naturais farmacologicamente ativos e que podem possuir ação terapêutica eficiente (COLALTO, 2018). É baseada na ampla aceitação da medicina popular, associada à abundância e à disponibilidade das plantas, que produtos de origem vegetal se tornam uma alternativa promissora para o tratamento e na prevenção de doenças (JÚNIOR *et al*. 2016).

Uma interessante aplicação terapêutica encontra-se nas folhas da planta *Spondias mombin* L., popularmente conhecida como cajazeira ou taperebá, pertencente à família Anacardiaceae. Esta tem se evidenciado por apresentar capacidade antioxidante em seus extratos vegetais. Assim, é necessário, portanto, desenvolvimento tecnológico para obtenção desses extratos naturais que se destacam por possuir baixa toxidade e potencial na prevenção e tratamento de várias doenças, os que os torna semelhante aos antioxidantes sintéticos (JOANA *et al*. 2013).

Devido ao potencial que possuem, as folhas de cajazeira (*Spondias mombin* L.) têm sido utilizadas no Brasil e em outros países da América do Sul na medicina tradicional, como anti-inflamatório, antitumoral, antidepressivo e ansiolítico. Pode ser encontrada nas regiões tropicais da América do Sul, África e Ásia, principalmente no Norte e Nordeste do Brasil (DOS SANTOS SAMPAIO *et al.* 2018, ELUFIOYE *et al*. 2017).

Como os compostos naturais presentes na cajazeira são de extrema significância para prevenção de inúmeras enfermidades, a utilização de todas as partes que a compõem, sobretudo o uso de sua folha para o tratamento de doenças, tem despertado o interesse dos pesquisadores. Dessa forma, os extratos brutos dessa espécie podem fornecer bons recursos e perspectivas futuras para a manutenção da saúde, contribuindo para a medicina convencional com seu promissor potencial terapêutico (DAL SANTO *et al.* 2021).

A extração é uma operação unitária que visa realizar a separação de substâncias contidas em alguns materiais, elas podem ser sólidas ou líquidas e essa separação pode ocorrer através de processos físicos, mecânicos ou químicos (BENELLI, 2010). A extração é a primeira e mais importante etapa no isolamento e, posteriormente, na caracterização de compostos bioativos de materiais vegetais. É uma operação crucial para estudos quantitativos e qualitativos das substâncias bioativas. O rendimento do processo de extração não depende apenas dos parâmetros operacionais, mas também dos métodos de pré-tratamento, composição química e características físicas da planta (MPHAHLELE *et al.* 2016).

As tecnologias de extração podem ser classificadas basicamente em dois tipos, convencionais e não convencionais. As tecnologias convencionais extraem compostos bioativos de matrizes vegetais usando solventes convencionais, com ou sem tratamento térmico, e ocorrem em pressão atmosférica. São métodos simples, porém que apresentam como desvantagens o alto consumo de solvente, muitas vezes tóxicos. Entre as não convencionais podem ser citadas as extrações a pressões elevadas e temperaturas distintas, sua eficácia é baseada no ajuste adequado do binômio temperatura/pressão (BARBA *et al*. 2017). As tecnologias de extração com fluidos pressurizados estão entre os métodos adequados para obter extratos e, dependendo do solvente utilizado, são consideradas como tecnologias de extração verde. Essas técnicas são aplicadas como instrumento eficaz para extrair fitoquímicos (ZHAO; SALDAÑA, 2019).

As tecnologias não convencionais podem oferecer eficiência de extração superior em termos de rendimento, pois exploram melhor o processamento e insumos energéticos, garantindo maior seletividade dos compostos químicos na extração, quando comparados aos

métodos convencionais (BARBA *et al*. 2017; PUTNIK *et al*. 2018; KOVACEVIC *et al*. 2018). Um tipo de extração não convencional que tem suscitado interesse dos pesquisadores é a extração com água pressurizada. Sua utilização é atraente devido às propriedades que a água possui como solvente a altas temperaturas e pressões (ainda no estado subcrítico), tais como, propriedades físico-químicas semelhantes aos solventes orgânicos, extratos com baixa viscosidade, alteração na densidade facilitando a extração, aumento no poder de difusão na matriz vegetal, atóxica, baixo custo e boa disponibilidade (NIMET *et al*. 2011, SANTOS; MEIRELES, 2011).

Este trabalho teve por objetivo geral extrair e caracterizar compostos bioativos da folha de cajazeira (*Spondias mombin* L.), comparando técnicas de extração convencionais e não convencionais. Para atingir este objetivo, os seguintes objetivos específicos foram delineados:

- Caracterização das folhas de cajazeira em relação a granulometria e ao teor de umidade;
- Avaliação das técnicas de extração a altas pressões (água subcrítica pressurizada) e pressão atmosférica (turbólise e ultrassom) na obtenção de extratos da folha de cajazeira;
- Avaliação e comparação dos rendimentos das extrações realizadas pelas técnicas de turbólise, ultrassom e água subcrítica pressurizada;
- Determinação do perfil fitoquímico e teor de compostos fenólicos dos extratos obtidos utilizando as técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e análise de compostos fenólicos totais (CFT);
- Avaliação da seletividade dos compostos determinados por CLAE;
- Obtenção da cinética de extração da água subcrítica pressurizada e modelagem matemática do processo com os modelos de Martínez e Esquível;
- Determinação do teor de CFT do resíduo sólido reprocessado da extração com água subcrítica pressurizada.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo são apresentados aspectos teóricos relacionados à folha de cajazeira (*Spondias mombin* L.) e seu extrato. Foram abordados também alguns tipos de processos de extração, focando na extração com água pressurizada e nas análises química dos extratos.

2.1. PLANTAS MEDICINAIS

As plantas sempre fizeram parte do cotidiano de povos que procuravam tratamentos medicinais. Há séculos este conhecimento empírico em relação a utilização de plantas como remédios é transmitido entre gerações, sendo parte do que se chama de medicina popular. O uso de substâncias bioativas presente em plantas é bastante comum na medicina popular, embora não se tenha comprovação científica acerca da eficiência, essa prática tem norteado e contribuído para a descoberta científica dessas substâncias. Elas podem ser classificadas em tóxicas ou nutracêuticas. As substâncias tóxicas são compostos químicos de ocorrência natural ou por indução de processos que exercem efeitos adversos à saúde humana. Já as nutracêuticas são compostos ativos ou derivados naturais, com propriedades medicinais, que beneficiam a saúde e previnem doenças (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Essas plantas são geralmente utilizadas em forma de chás, na ingestão por deglutição ou até mesmo como um tipo de banho. Compreendendo a importância e contribuição da medicina popular, pesquisadores têm despertado interesse em estudar as substâncias presentes em folhas de plantas, principalmente de plantas frutíferas, pois estas possuem uma menor probabilidade de efeitos tóxicos ou adversos a saúde (ALELUIA *et al*. 2017, GUEDES; CORBIN, 2020).

As espécies frutíferas tropicais nativas do Brasil são excelentes fontes de compostos químicos que, quando isolados, poderão ser utilizados como aditivos de diferentes funções nos alimentos (antioxidantes, antimicrobianos, corantes, entre outros), como fármacos, em benefício da saúde humana (SILVA *et al.* 2016). A ingestão desses compostos químicos também pode melhorar o funcionamento do organismo, não os consumir pode representar até um fator de risco a saúde (TEODORO, 2019). Apesar do fruto dessas espécies ser mais explorado, tendo papel importante na saúde humana no fornecimento de calorias, sais minerais, vitaminas, fibras e água, estudos mostraram que substâncias contidas nas folhas de plantas frutíferas, como a cajazeira, também são de fundamental relevância e têm sido pouco exploradas (CRISTOFOLI *et al*. 2019, DO SACRAMENTO; DE SOUZA, 2009).

2.2. FOLHAS DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.)

O uso de folhas na medicina popular também está associado a seu baixo custo, sendo mais acessível à população. Desta forma, avaliar as propriedades e substâncias presentes nelas contribuirá para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas (ALELUIA *et al*. 2017). A cajazeira é uma árvore facilmente encontrada no Brasil, o suco de seus frutos e suas folhas em pó são tradicionalmente usados em programas fitoterápicos. São produzidos remédios caseiros, como os chás, da casca do tronco, das folhas e flores, sendo utilizados no tratamento de diarreias, vômitos, hemorroidas e inflamações da garganta. Suas folhas também são utilizadas como antivirais pelo programa público de fitoterapia denominado "Farmácias Vivas" (DA SILVA *et al.* 2020).

Silva, Martins e Oliveira (2009) estudaram a diversidade e a estrutura genética das populações de cajazeira na Zona da Mata pernambucana e compararam com uma coleção de germoplasma mantida no centro experimental da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) no município de Itambé, com o objetivo de obter informações para preservação e utilização em futuros programas de melhoramento genético. Concluíram que há uma alta diversidade genética da planta espalhada na região, sendo isso algo que enriquece economicamente tanto a indústria alimentícia quanto a farmacêutica, pois todas as partes da árvore (casca do tronco, folhas, flores e frutos) podem ser aproveitadas. Além disso, perceberam que por se tratar uma árvore frutífera de origem americana, a região nordeste do Brasil, principalmente, apresenta condições climáticas adequadas para seu cultivo comercial.

Pesquisadores têm estudado o uso de folhas de cajazeira no tratamento de transtornos psiquiátricos. Dos Santos Sampaio *et al.* (2018) realizaram uma avaliação farmacológica destas folhas como um ansiolítico e antidepressivo tradicional, em testes realizados em animais observaram um controle no sistema neurotransmissor. Ayoka *et al*. (2006) estudaram as propriedades ansiolíticas dos extratos aquoso, metanólico e etanólico das folhas, sendo o extrato etanólico visto como mais eficiente. Outros estudos avaliaram os efeitos ansiolíticos e antidepressivos agudos das folhas de cajazeira em espécies de animais roedores detectando na triagem fitoquímica a presença de taninos, saponinas, fenóis, flavonoides e glicosídeos cardíacos (AYOKA *et al*. 2005).

Existem alguns estudos químicos realizados com folhas de cajazeira que mostram a presença de ácidos fenólicos (ácidos clorogênico e cafeico), flavonóis (quercetina) e elagitaninos (geraniína e galoilgeraniína). Diversas ações farmacológicas dos extratos

orgânicos e aquosos não padronizados têm sido demonstradas, como antibacteriana e antifúngica (OSUNTOKUN *et al.* 2018), leishmanicida (ACCIOLY *et al*. 2012), gastroprotetora (SABIU *et al*. 2015), anti-inflamatório (CABRAL *et al*. 2016) e antiviral, contra poliomielite, coxsackie B_4 e vírus herpes simplex 1 (CORTHOUT *et al*. 1991, CORTHOUT *et al*. 1992), porém há ratificações. Devido à rica constituição, elas também têm sido utilizadas para o tratamento de prostatite, uretrite, cistite e conjuntivite. A presença de taninos, saponinas, resinas, esteróis, triterpenos, flavonoides e alcaloides, indica potenciais antimicrobianos, antiedematogênicos, hipoglicêmicos e antioxidantes (GOMES *et al*. 2020).

Além do uso para fins medicinais, as folhas de cajazeira podem ser úteis na preservação do meio ambiente. Rodrigues *et al*. (2020a) estudaram o teor de macronutrientes e o acúmulo de flúor nas folhas de cajazeira, com o objetivo de identificar e controlar o efeito das emissões de poluentes para aplicação em áreas industrializadas. Ao utilizarem indicadores biológicos como métodos de detecção de alterações ao meio ambiente, concluíram que as folhas são particularmente eficazes para determinar o real impacto dos poluentes nas plantas e fornecer informações adicionais sobre a quantidade e intensidade de exposição local. Observaram também que esses dados são importantes para a conservação de espécies nativas, bem como para programas de biomonitoramento de qualidade ambiental.

Figura 1 - Árvore cajazeira (*Spondias mombin* L*),* folhas e frutos.

Fonte: Dos Santos-Serejo *et al.* (2009).

2.3. EXTRATOS DA FOLHA DE CAJAZEIRA (*Spondias mombin* L.)

Os extratos de vegetais têm características correspondentes ao respectivo material de

origem. Eles mantêm os princípios ativos da matéria-prima de forma concentrada ou isolada. Podem apresentar funções biológicas como antifúngico, antibacteriano e antiviral. Nas indústrias de alimentos são utilizados como aditivos, sendo excelentes conservantes, atuando como agentes antifúngicos, antibacterianos e como agentes antioxidantes, eliminando radicais livres como o oxigênio singleto e alguns quelatos de metais (ANDRADE *et al*. 2018, SILVA *et al*. 2018, KOBAYASHI; AMARAL, 2018).

Os extratos da folha de cajazeira têm apresentado substâncias de natureza fenólica, principalmente contendo substâncias bioativas (carotenoides, flavonoides, proantocianidinas, polifenólicos), que podem ajudar no funcionamento do organismo, auxiliando na prevenção e modulação das vias metabólicas associadas ao desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis (MILENKOVIC *et al.* 2017). Na medicina popular há relatos de seu uso para tratamento de diversas doenças atópicas e sistêmicas, como inflamações na boca e garganta, casos de prostatite e herpes labial. Porém, estudos químicos mais aprofundados acerca dos extratos desta folha são escassos (LUCCHESE *et al*. 2016, AGHAMOHAMMADI *et al*. 2018). É necessário que os extratos das folhas sejam submetidos a padronizações, para garantir resultados confiáveis quanto a suas atividades biológicas para fins fitoterápicos (CABRAL *et al.* 2016; ISOLA *et al*. 2019).

Compostos bioativos, como os presentes no extrato das folhas de cajazeira, têm atraído diversos estudos. Os polifenóis e os flavonoides têm sido cada vez mais explorados no campo da nutrição em razão das suas funções fisiológicas, incluindo atividades antioxidantes, anticancerígenas, antidiabéticas e anti-inflamatórias (FANG; BHANDARI, 2010, LIU *et al*. 2018, MANACH *et al*. 2014). Inúmeras plantas, ervas, frutas e vegetais, bem como seus extratos e subprodutos, são ricos destes compostos bioativos, possuem grande potencial nutracêutico (BISWAS *et al*. 2015). Esses compostos têm características estruturais vulneráveis e são extremamente sensíveis às condições ambientais, incluindo ambientes ácidos, alcalinos, luz, calor e oxigênio (YANG *et al*. 2016). Além disso, eles são propensos a reações de oxidação, polimerização e condensação, o que pode ocasionar com facilidade uma diminuição da estabilidade e da biodisponibilidade (ANANINGSIH; SHARMA; ZHOU, 2013, JAKOBEK, 2015).

Dal Santo *et al*. (2021) avaliaram o potencial neuroprotetor do extrato hexânico da folha de cajazeira por maceração em peixes-zebra e concluíram que o extrato demonstrou um efeito neuroprotetor mediado pelas atividades ansiolítica e antioxidante. No entanto, afirmaram que mais estudos são necessários para elucidar a ação exata e seus efeitos. Os resultados indicaram

que o extrato da folha protege contra danos oxidativos que, provavelmente, estão relacionados com os compostos fenólicos identificados. Perceberam também que outros estudos são necessários para discriminar qual composto do extrato poderia ser responsável pelo efeito biológico encontrado. Implicações semelhantes foram notados por Ayoka e seus colaboradores (2008), observaram que os extratos da folha de cajazeira induzem uma redução nos níveis de ansiedade e medo, possuindo efeitos antidopaminérgicos e anticonvulsivantes.

Ishola, Ikuomola e Adeyemi (2018) investigaram o efeito protetor do extrato hidroetanólico da folha de cajazeira contra déficit de memória induzido por escopolamina. Eles determinaram o teor de fenólicos totais do extrato da folha por equivalente de ácido gálico (EAG), sendo obtidos aproximadamente 29,28 mg EAG/g de extrato e o teor de flavonoides, componente principais dos compostos fenólicos, foi em torno de 12,84 mg/g de extrato. O extrato também apresentou capacidade antioxidante, sendo 41,06 mg de ácido ascórbico por grama de extrato. No tratamento realizado em ratos com o extrato da folha de cajazeira observaram melhora significativa no aprendizado e no déficit de memória induzido por escopolamina. Isso foi atribuído, possivelmente, ao aumento dos sistemas de defesa antioxidante devido ao tratamento com o extrato. Concluíram então que este pode ser empregado como eficiente agente fitoterápico no tratamento da demência do tipo Alzheimer.

A literatura descreve que o extrato das folhas dessa planta tem potencial abortivo e efeitos eméticos como antídoto para toxina de serpentes e um alto consumo dessa fruta auxilia no tratamento de lesões (JANZEN, 1985, VILLEGAS *et al.* 1997). Seu potencial abortivo também foi percebido por Offiah e Anyanwu (1989), que reportaram o extrato aquoso das folhas de cajazeira pode provocar efeitos abortivos *in vivo* em camundongos e ratos. Os testes foram realizados em trinta e seis ratas e camundongas grávidas que receberam doses de 750 e 1500 mg de extrato/kg. Os resultados fitoquímicos revelaram que as folhas de cajazeira contêm taninos, saponinas, resinas, esteróis e triterpenos, sendo a presença de saponinas vista como possível causa para a expulsão da placenta. Além disso, Asuquo e colaboradores (2012) observaram que os extratos desta planta influenciaram na diminuição da massa testicular e número de espermatozoides em ratos.

Pesquisas recentes têm demonstrado que os extratos da folha de cajazeira apresentam uma gama de atividades biológicas com inúmeros efeitos tanto *in vivo* quanto *in vitro.* No estudo *in vivo,* foi percebida atuação antitumoral e antiangiogênico, sendo esses dados as primeiras descobertas com atividades antiangiogênicas dos extratos da folha de cajazeira (REY-BLANES *et al*. 2020). Já no estudo *in vitro*, Dos Santos e colaboradores (2020)

avaliaram a ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da folha de cajazeira, sobre *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Eles observaram que extrato das folhas de cajazeira apresentou um desempenho superior ao hipoclorito de sódio 2,5% sobre as bactérias testadas.

Dk *et al.* (2020) avaliaram o potencial do extrato aquoso da folha de cajazeira como meio alternativo para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos em aplicações clínicas e biotecnológicas. Em uma revisão da literatura elaborada por Tshibangu e colaboradores (2020), visando verificar propriedades antivirais de plantas aromáticas e dos óleos essenciais que possam ser empregadas contra o agente causador do COVID-19, a planta *Spondias mombin* L. apresentou alta atividade antiviral, até mesmo mesmo contra o SARS-CoV-1, que tem 96% do mesmo fundo genético do SARS-CoV-2.

A cajazeira encontra-se entre as plantas medicinais utilizadas na região Nordeste registradas pela Anvisa que possuem propriedades moduladoras para imunidade em tempos de COVID-19 (DOS SANTOS; DE ARAÚJO, 2020). Osuntokun (2020) afirmou que a folha de cajazeira é um produto de ocorrência natural que tem capacidade de uso em formulações de novos agentes antimicrobianos, pois apresentou propriedades para um tratamento preditivo da infecção do novo coronavírus, percebendo que a planta pode conter matrizes que devem ser úteis na produção de medicamentos para combater a SARS-CoV-2.

Saleh e Kamisah (2021) estudaram o potencial de plantas medicinais para o tratamento da febre por infecção do vírus da dengue (DENV) e para tratamento da síndrome respiratória aguda grave-coronavírus (SARS-CoV). Eles identificaram na planta *Spondias mombin* L. fitoconstituintes pertencentes a várias classes químicas que possuem atividade antiviral contra essas infecções, contudo, estudos extensivos sobre o potencial das plantas medicinais são necessários para confirmar sua eficácia. Os principais constituintes fenólicos identificados na *Spondias mombin* L. foram rutina, quercetina e ácido elágico, que mostraram efeitos antivirais, 500 µg/mL de extrato inibiram a replicação viral de até 68,42% nas células.

Os pincipais composotos encontrados nos extratos das folhas de cajazeira são os ácidos fenólicos (gálico, elágico e clorogênico) são citados em estudos na literatura como possuidores de propriedades bioativas. Brito *et al.* (2018) detectaram em seu estudo uma atividade antiulcerogênica do extrato obtido das folhas de cajazeira. Eles associam essa atividade à interação sinérgica do ácido gálico e o ácido elágico. Abdelwahab (2013) caracteriza o ácido gálico como gastroproteror e que a ação conjunta dos ácidos gálico e elágico proporciona aumento na capacidade antioxidante de alimentos, folhas ou extratos vegetais. Hwang *et al.*

(2014) observaram o ácido clorogênico como regulador do tráfego de leucócitos em doenças inflamatórias. Nworu *et al.* (2011) mostraram o papel dos ácidos clorogênicos e outros flavonóides na cicatrização de feridas em ratos. Gomes e colaboradores (2020) afimaram em seu trabalho que os ácidos clorogênico e elágico são compostos fenólicos com potente efeito antioxidante devido à sua capacidade de reduzir oxigênio singlete, peroxidação lipídica e quelação de metais. Essas propriedades estão relacionadas, principalmente, a ações redutoras em função da estrutura molecular, mais especificamente da posição e grau de hidroxilação da estrutura do anel aromático, que influencia desde a fase inicial até a propagação do processo oxidativo.

A rutina, que também é denominada de quercetina-3-O-rutosídeo. É outro composto frequentemente presente no extrato das folhas de cajazeira. Segundo Zapata-Morales *et al*. (2021), ela é um flavonóide presente em materiais vegetais que possui elevada atividade antioxidante, além de atividade anti-inflamatória e antiviral. Rahman e colaboradoes (2021) observaram a rutina na inibição das proteínas vitais do SARS-CoV-2. Ghorbani (2017) mostrou o potencial desse flavonóide na preveção ou tratamento de patologias associadas ao diabetes. Os estudos de Zhou e Tang (2017) e Santos e Salatino (2000) mostraram que a rutina também pode ser empregada na proteção anti-raios UV-B. A presença desse composto nas folhas de plantas é comum, pois atua como uma barreira protetora das organelas de células responsáveis pela fotossíntese. Guedes *et al.* (2020b) realizaram análises comparativas do perfil metabólico e atividade citotóxica do extrato das folhas de cajazeiras do Nordeste do Brasil. Concluíram que o marcador químico rutina está presente em concentrações consideráveis nas amostras dessas folhas, sendo um insumo com potencial a ser explorado pela indústria farmacêutica e setores de produção agrícola.

A presença de compostos fenólicos no extrato da folha de cajazeira é um indicativo que seu uso pode beneficiar o organismo, uma vez que os compostos bioativos são arrastados da matriz celular da planta, resistem ao processo de extração e tornam-se capazes de serem utilizados para diversas aplicações (SUGANDHA *et al.* 2020). A identificação e o isolamento dos compostos bioativos a partir de extratos de plantas, como a cajazeira, contribuem de forma significativa para a química de compostos naturais e a farmacologia (NASTIC *et al.* 2018). E, o fato serem boas fontes de substâncias bioativas, pode agregar valor esta matéria-prima que ainda é pouco explorada nas indústrias farmacêuticas e alimentícias (GUEDES *et al*. 2020a). Mostrando assim a relevância do desenvolvimento de pesquisas e metodologias para a extração destes compostos da planta.

2.4. PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

A extração é uma operação unitária que tem por objetivo separar substâncias de matrizes sólidas ou líquidas por meio de processos físicos ou químicos. Geralmente, os extratos vegetais são obtidos através da utilização de um ou mais solventes capazes de extrair os princípios ativos contidos na matriz vegetal. Técnicas de extração por solventes tais como percolação, maceração, destilação a vapor e utilização de Soxhlet são empregadas para este fim (SCALIA; GIUFFREDA; PALLADO, 1999).

Geralmente as variáveis que influenciam nos processos de extração são tempo, temperatura, pressão, tamanho das partículas, proporção soluto-solvente, complexidade da matriz vegetal e a polaridade do solvente. O tempo de contato entre sólido-solvente permite a saturação da solução assegurando maior rendimento na extração dos compostos. Quanto menor o tamanho das partículas e maior sua homogeneidade, maiores serão as taxas de extração, devido ao aumento da área de contato. Porém, quando as partículas possuem pequenas dimensões podem formar uma camada compacta de pó e dificultar o contato do líquido extrator com o material vegetal, principalmente em métodos como a percolação, com grande influência sobre a solubilidade dos compostos durante a extração. A utilização de água e solventes hidroalcoólicos são mais adequados para matrizes alimentícias. Estas variáveis contribuem diretamente na qualidade dos extratos obtidos. Além de serem considerados substâncias Generally Recognized As Safe (GRAS), solventes geralmente reconhecidos como seguros, não representando risco à saúde humana em níveis residuais. (MOURA *et al*. 2005, ROCKENBACH *et al*. 2008, PAGLIOSA *et al*. 2010, ZLOTEK *et al*. 2016).

A eficácia da extração de substratos em fontes vegetais depende também de outros fatores, tais como a natureza da matriz, resistência dos micronutrientes, propriedades químicas dos fenólicos, como a estrutura molecular, que inclui o número de anéis aromáticos, grupos hidroxila e sua abundância (LUCCI; SAURINA; NÚNEZ, 2017).

Na escolha do solvente a ser utilizado na extração de substâncias em vegetais, alguns fatores devem ser considerados, principalmente, devido a questões relacionadas à solubilidade dos metabólitos desejados e parâmetros físicos como viscosidade, tensão superficial e pressão de vapor do solvente (CHEMAT *et al.* 2017). Além disso, é importante realizar uma revisão cuidadosa da literatura sobre as espécies e as classes de compostos que estão sob investigação. E, caso exista pouca informação sobre os bioativos de uma determinada espécie, a consulta de relatórios fitoquímicos sobre outras espécies de mesmo gênero ou mesma família podem

fornecer informações acerca dos compostos que poderão ser obtidos, dos solventes e procedimentos que podem ser usados para isolá-los (SARKER, LATIF; GRAY, 2006).

A definição das amostras também demanda cuidados, pois nela decide-se fatores essenciais como o composto a ser extraído, seu tipo (quanto à polaridade) e a quantidade desse composto (SAGAR *et al.* 2018). Esse cuidado é necessário porque algumas amostras podem ser incompatíveis para análise direta devido a fatores como diluição, concentração excessiva dos analitos alvo ou incompatibilidade com os procedimentos de operação do instrumento. Dependendo da localização intrínseca do composto bioativo na matriz sólida, ocorre maior facilidade de arraste pelo solvente, sendo assim extraído por ele. Nas sementes, frutas e raízes, os solutos geralmente são distribuídos uniformemente no sólido, enquanto que, nas folhas e flores os solutos se encontram no interior de tricomas glandulares frágeis (ROSTAGNO; PRADO, 2013).

Existem vários métodos voltados para extração de compostos bioativos, tanto métodos mais básicos, como extração por Soxhlet, extração hidro alcoólica e solventes em geral, quanto aqueles mais tecnológicos, como extração em contracorrente, por ultrassom, assistida por micro-ondas, solvente pressurizado e extração supercrítica. Um aspecto importante a ser considarado na escolha do método é a viabilidade econômica, devendo esta ser adequada a cada situação (HANDA *et al*. 2008). A extração com solventes é bastante utilizada, pois trata-se de um método convencional de extração sólido-líquido, podendo ser realizada com solventes orgânicos, como o álcool metílico, álcool etílico e propanona (VIEIRA *et al*. 2017). Os compostos biologicamente ativos presentes nas plantas, geralmente, possuem boa interação no contato com o solvente (NASTIC *et al.* 2018).

Algumas situações específicas, no entanto, exigem a aplicação de técnicas de extração mais elaboradas, que utilizam equipamentos especializados, como nos casos de destilação a vapor em grande escala e na extração com fluidos supercríticos (SARKER, LATIF; GRAY, 2006). Técnicas como extração assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom, extração com fluido supercrítico, extração com líquido pressurizado e campo elétrico pulsado, são técnicas favoráveis para promover a ruptura celular de materiais vegetais presenvando a estabilidade dos compostos extraídos, pois são componentes que dificilmente são extraídos em condições ambiente (POJIC; MISAN; TIWARI, 2018). O ideal seria o uso de uma técnica que potencializasse o processo de extração gerando uma eficiente obtenção de compostos bioativos. Diante da variedade de técnicas que podem ser utilizadas, questões como menor custo do solvente, tempo de extração e não contaminação ambiental, devem consideradas para a

realização da escolha do processo de extração (MIRON *et al*. 2011).

Nos métodos extrativos ocorre a combinação do solvente com outros fatores, como o aquecimento, facilitando a transferência de massa entre os compostos presentes na matriz vegetal e o solvente. Entretanto, deve-se ter atenção a esses fatores devido a sensibilidade dos compostos, pois as altas temperaturas podem causar degradação de compostos termolábeis e possíveis reações com o material (BARBA *et al*. 2016). A escolha do método de extração é uma etapa crucial na obtenção de substâncias bioativas da matriz vegetal, pois existem substâncias que possuem diferentes estruturas químicas e interações com outros nutrientes da planta. Polifenóis, por exemplo, são um grupo predominante de fitocompostos de folhas e frutos que são suscetíveis à oxidação (JIN *et al*. 2017; KOBUS-CISOWSKA *et al*. 2019).

Dentre as técnicas de extração existentes, cita-se a extração com líquidos pressurizados, pois através dela é possível realizar rápida extração de analitos em ambiente inerte sob alta pressão e temperatura, que são variáveis que influenciam diretamente o processo, obtendo produtos de alto valor agregado. Isso ocorre devido às condições que os solventes são expostos, que mesmo quando submetidos à alta pressão permanecem em estado líquido favorecendo a interação analito-solvente, aumentando a solubilidade e a cinética de dessorção dos compostos bioativos a partir da matriz vegetal. Diferenciando-se dos demais métodos de extração frequentemente usados (maceração, infusão, hidrodestilação por arraste, decocção) que embora obtenham extratos líquidos são processos com maiores tempos de extração que os pressurizados (LI *et al*. 2013).

Em processos de extração de compostos químicos, os solventes mais empregados (etanol, água, hexano, acetato de etila e clorofórmio) associados aos métodos convencionais, apresentam algumas desvantagens, como grande volume residual, possíveis reações adversas prejudiciais ao meio ambiente e longo período de extração. Desta forma, técnicas de extração sob altas pressões têm sido alvo de mais estudos. Nessas técnicas a extração de componentes de uma matriz sólida é realizada pelo contato entre o substrato e o solvente em estado subcrítico ou crítico, em que, geralmente, o substrato sólido forma um leito fixo através do qual o solvente escoa e extrai os componentes do substrato. Esta extração caracteriza-se como um processo em regime transiente, sendo os componentes transportados da fase sólida para o solvente (CARDOZO-FILHO; FERRUA; MEIRELLES, 1997). Geralmente os solventes mais utilizados sob alta pressão são CO_2 supercrítico, adicionando etanol como cosolvente, e a água subcrítica para a obtenção de componentes nas extrações. A alta pressão não é utilizada somente em extrações, outros processos como fracionamento, refinamento e desodorização em matrizes

de amostras naturais, seja em escala laboratorial ou escala industrial, fazem uso de altas pressões (IDRUS *et al.* 2018).

2.4.1. Extração por turbólise

A extração por turbólise (ET), também chamada de turboextração, enquadra-se como um mecanismo de extração físico, pois é um processo que rompe a parede celular das células vegetais concedendo uma rápida extração de metabólitos secundários que são sensíveis aos solventes aplicados (SERRANO *et al.* 2013). Nela a extração é realizada com agitação e moagem, provocando a redução simultânea do tamanho das partículas das células vegetais pelo emprego da força de cisalhamento. Através da ruptura das células, as substâncias ativas sofrem uma dissolução no extrator e, rapidamente, esgotam-se os compostos a serem solubilizados pelo solvente ou atinge-se a saturação do mesmo (MARTINS *et al.* 2017).

O método consiste em depositar a matéria-prima vegetal juntamente com o solvente e, com o movimento rotacional, triturá-las com liquidificadores industrias com rotor de alta velocidade (2000 a 5000 rpm), causando um fenômeno de deformação (cisalhamento). A taxa de rotação dessa técnica fornece energia à mistura aumentando a difusibilidade do solvente, pórem pode ocasionar também a destruição de compostos termossensíveis. Por isso, normalmente o tempo de extração é curto e a temperatura controlada de maneira que o material vegetal seja aquecido sem degradar os compostos presentes. Esse método tem como vantagens a rapidez, simplicidade e versatilidade, sendo seu uso em pequena e média escala (SIMÕES *et al.* 2017). Além disso, a extração por turbólise pode apresentar rendimentos superiores a outras técnicas de extração mais consagradas na literatura (marceração e percolação) e removem quantidades consideráveis de metabólitos secundários, por proporcionar uma homogeinização contínua entre o solvente e o material vegetal (CAVALCANTI CLEMENTINO *et al.* 2016).

Batista *et al*. (2014) conseguiram obter compostos com propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas semelhantes às da clorexidina, utilizando os extratos de camomila e romã obtidos através do processo de turbólise. Bezerra *et al*. (2018) desenvolveram perfis cromatográficos de extratos de folhas de pitanga (*Eugenia uniflora*) utilizando a extração por turbólise, sendo realizadas com a mistura dos solventes acetona e água. Eles obtiveram como principais compostos o ácido elágico, o ácido gálico e a miricitrina. Ramos e colaboradores (2017) realizaram extração por turbólise da folha de pitanga utilizando acetona e água na proporção de 7: 3 (v/v). Eles determinaram o teor de flavonóides totais em função da

porcentagem em grama (g%) dos composos obtidos, sendo obtidos entre 0,01 e 0,17 mg/mL de rutina e quercetina.

2.4.2. Extração assistida por ultrassom

A extração assistida por ultrassom (EAU) possui algumas características que a destacam quando comparadas a outras técnicas. É uma técnica não destrutível, ou seja, os compostos bioativos que são extraídos a partir dela não são submetidos à degradação, capaz de obter componentes químicos em um curto tempo de extração utilizando pouco solvente, sendo uma técnica econômica em relação a outras técnicas convencionais, que requerem uso de volume maior de solvente (DA COSTA *et al*. 2020). O mecanismo de atuação deste método no material vegetal dá-se por cavitação, vibração, esmagamento e mistura, e, de forma geral são efeitos térmicos e mecânicos. O desenvolvimento desses efeitos provoca quebra na parede celular da planta e reduz o tamanho das partículas, elevando a taxa de transferência de massa, tudo isso preservando a estrutura dos componentes naturais (WEN *et al*. 2018).

De forma geral, as ondas ultrassônicas de alta potência são aplicadas usando dois tipos de dispositivos, o banho ultrassônico ou equipamento de ultrassom do tipo sonda. Ambos utilizam um transdutor como fonte de potência ultrassônica. O tipo mais comum é o banho ultrassônico, que se destaca por ter baixo custo, variedade de modelos do equipamento e por poder extrair várias amostras de forma simultânea. O dispositivo consiste em um tanque de aço inoxidável que possui um ou mais transdutores ultrassônicos, que, normalmente, operam a uma frequência de cerca de 40 kHz e podem ser equipados com controle de temperatura. O sistema tipo sonda diferencia-se por fornecer a potência diretamente na amostra, aumentando assim o progresso da extração. Ele opera com uma frequência com cerca de 20 kHz, o que resulta em uma melhor distribuição das ondas e perda mínima de energia ultrassônica (CHEMAT *et al*. 2017).

A aplicação da EAU é vasta; a indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética faz o uso deste método de extração de forma bem sucedida nos últimos anos, com a finalidade de estudar a bioatividade dos polifenóis, atividades antioxidante, anticarcinogênicos, dentre outras (DZAH *et al*. 2020). Carrasco-Sandoval *et al.* (2021) determinaram o teor de compostos fenólicos totais em sementes de quinoa (*chenopodium quinoa will*). Eles perceberam que a técnica de EAU foi uma alternativa rápida e seletiva de extração, encontraram uma faixa de concentração de 1,1 a 2,0 $mg \cdot kg^{-1}$ de compostos. Luo et al. (2021) utilizaram a EAU para descontaminação de cádmio

em grãos de arroz e farinha de arroz. Eles observaram que o método foi bem sucedido para este fim. Com o objetivo de extrair carotenoides da casca da laranja, Savic Gajic e colaboradores (2021) utilizaram a EAU na extração em cascas de laranjas usando como solvente o azeite de oliva. Eles realizaram a extração a temperatura de 42°C por 35min e concluíram que a EAU utilizando o azeite de oliva foi eficiente para a obtenção de carotenóides da casca de laranja.

2.4.3. Extração com água subcrítica pressurizada

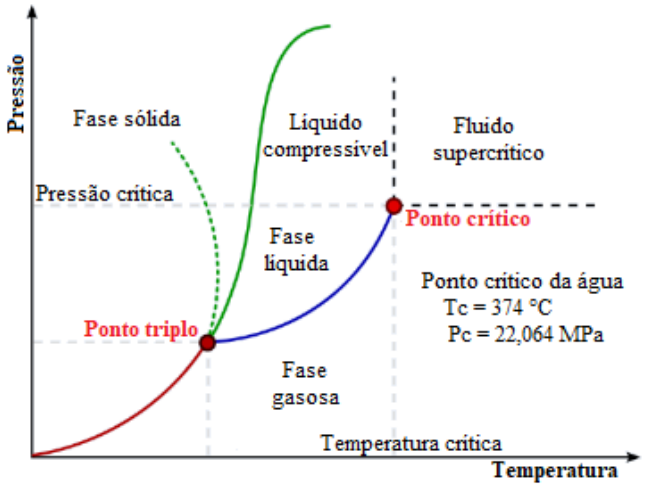
A extração com água subcrítica pressurizada (EAP), também denominada "água quente comprimida" ou “extração por água quase supercrítica”, ocorre com a água a altas temperaturas e pressões, em que a fase da água líquida é mantida a pressões de até 222bar (NAKAJIMA, 2013; AKGÜL *et al.* 2014; THIRUVENKADAM *et al.* 2015). A EAP é uma técnica com alta difusividade, ou seja, o transporte do soluto ocorre de maneira rápida devido ao movimento térmico das moléculas do solvente. Sendo assim, as condições mínimas para se obter um processo subcrític oocorre à medida que a água é aquecida e pressurizada obedecendo a condição subcrítica. Nessa condição a água possui baixa viscosidade e baixa tensão superficial (ZAKARIA; KAMAL, 2016).

O interesse pela EAP tem crescido devido à água ser um solvente não-tóxico, que tem custo relativamente baixo, não é uma substância inflamável, produzindo então extrações ambientalmente corretas, sendo ainda extremamente reativa, podendo agir como um catalisador ácido ou básico em condições mais drásticas de temperatura e pressão (KO; CHEEIGH; CHUNG, 2014). Esse método também se torna promissor por usar pequena quantidade de solvente, pois a combinação de alta pressão e temperatura possibilita uma rápida extração. O efeito da alta temperatura também proporciona maior solubilidade dos compostos e aumenta a taxa de transferência de massa, melhorando assim a taxa de extração (HUIE, 2002; HENG *et al*. 2013).

A EAP é vista então como uma alternativa com menor impacto ambiental e eficiência semelhante a solventes orgânicos. Com a elevação da temperatura e pressão do sistema, a água adquire propriedades físico-químicas e polaridade semelhantes a solventes orgânicos, tais como álcoois comuns (metanol e etanol), resultando no aumento da solubilidade de várias moléculas orgânicas e gerando com isso extratos com considerável teor de compostos bioativos (TURNER; IBAÑEZ, 2012; TOMŠIK *et al*. 2017). Na condição subcrítica a água pode dissolver uma enorme variedade de analitos de média e baixa polaridade (PLAZA; TURNER,

2015; TEO *et al.* 2010). A Figura 2 apresenta o diagrama de fases da água, em que é possível observar as condições necessárias para os estados subcrítico e supercrítico. A água se encontra no estado subcrítico com a temperatura até 374°C e a pressão acima da pressão atmosférica. Já o estado supercrítico ocorre acima de seu ponto crítico (22,1 MPa e 374,15 °C), sendo a água a partir desse ponto definida como água supercrítica (MATSUMURA *et al.* 2005).

Figura 2 - Diagrama de fases da água.



Fonte: Adaptado de López, Figueredo e Martínez (2020).

Diversos produtos químicos orgânicos são produzidos em escala industrial por biotransformações em que a água pode ser o meio reacional. Porém, algumas vias de reação não podem ser realizadas com a água em seu estado natural, devido às restrições cinéticas, termodinâmicas e insolubilidade enzimática. Entretando, o uso de solventes orgânicos pode ser problemático devido à sua toxicidade, inflamabilidade e riscos ambientais. Devido a esses fatos, os fluidos hidrotérmicos, como a água subcrítica, têm despertado interesse nos últimos anos como uma alternativa aos solventes orgânicos para reações enzimáticas e extrações (KNEZ, 2018). A extração com água subcrítica é então uma alternativa menos nociva ao meio ambiente e que possui uma gama de aplicações possíveis (ZHU *et al.* 2015). A Tabela 1 apresenta trabalhos em que a água subcrítica foi utilizada na extração de compostos de materiais vegetias.

Tabela 1 – Trabalhos em que a água subcrítica foi utilizada para obtenção de compostos de interesse a partir de diferentes matérias-primas vegetais.

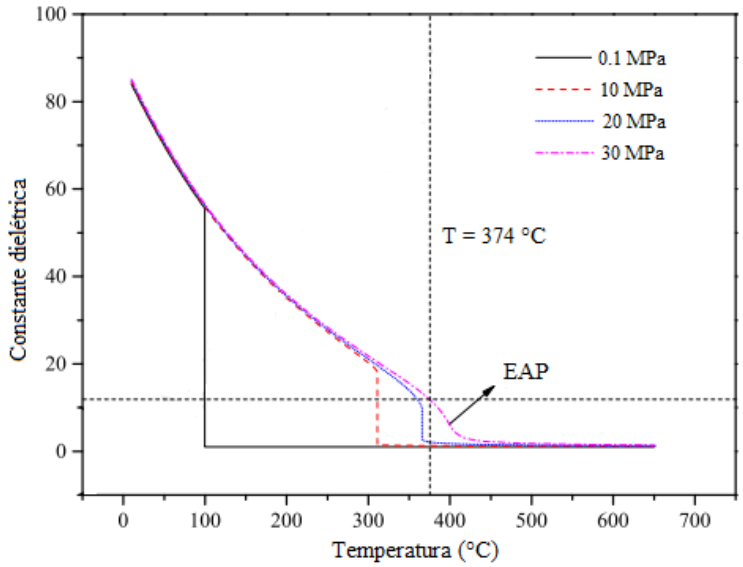
Autores (ano)	Compostos extraídos	Material vegetal
LI *et al.* (2021)	Polissacarídeos	Farelo de trigo
Pedras *et al.* (2020)	Antioxidantes	Resíduos de vinícolas
Vladić *et al.* (2020)	Fenólicos	Romã
Samadi *et al.* (2020)	Óleos essenciais	Folhas de *Aquilaria malaccensis*
Zhang e Chi (2020)	Antraquinonas	Raízes de *Rheum tanguticum*
Ziero *et al*. (2020)	Proteínas, aminoácidos	Diferentes Biomassas
Du *et. al.* (2019)	Antioxidantes	Farinha de coco
Sadeghmousavi (2019)	Óleos essenciais	Sementes de erva-doce
Lachos-Perez *et al.* (2018)	Fenólicos	Casca de laranja
WU *et al.* (2018)	Saponinas e óleos	Sementes de *Camellia oleifera*

Fonte: O autor (2021).

Em condições normais, a água solubiliza apenas substâncias iônicas, porém quando submetida ao estado subcrítico torna-se um bom solvente também para substâncias não iônicas (CARVALHO; BERGAMASCO; GOMES, 2018). O processo que leva a água ao estado subcrítico é capaz de modificar sua constante dielétrica e, consequentemente, sua polaridade, contribuindo para melhorar a transferência de massa durante a extração, preservando o potencial biológico do material vegetal (ZAKARIA; KAMAL, 2016).

A constante dielétrica da água (ε) tende a cair drasticamente com seu aquecimento. Em 25ºC seu valor é 80, já com a elevação da temperatura para 250ºC e com pressão de 25bar a constante é 25, sendo próxima dos valores para metanol e etanol a 25ºC que são, respectivamente, 33 e 24. A água adquire então algumas propriedades similares aos solventes orgânicos, podendo dissolver compostos de polaridade média e baixa (ZHANG *et al.* 2020). Isso ocorre porque ligações de hidrogênio ficam mais fracas, o que pode reduzir a energia necessária para a quebra das interações soluto-solvente, aumentando a eficiência da extração (MUÑOZ-ALMAGRO *et al*. 2019). Quanto maior a temperatura da água maior é o valor do produto iônico ou da sua constante de dissociação (K), facilitando reações de mecanismos iônicos. Isso mostra que a autoionização da água é um processo endotérmico, ou seja, que absorve calor (SEREEWATTHANAWUT *et al.* 2008). A Figura 3 apresenta o gráfico dos valores da constante dielétrica da água em função da temperatura em pressões definidas.

Figura 3. Gráfico dos valores da constante dielétrica da água em função da temperatura nas pressões de 0,1, 10, 20 e 30 MPa.



Fonte: Adaptado de Qian *et al*. (2016).

Há grande utilização da água sub e supercrítica na obtenção de materiais como a celulose, hemicelulose, lignina e amido, principais constituintes de um material vegetal. Esses materiais possuem alta carga microbiana quando encontrados *in natura*, porém a aplicação de processos de extração a altas temperaturas eliminam organismos patogênicos, conferindo segurança em relação ao produto extraído (BRUNNER, 2009). A extração de compostos bioativos de plantas tem apresentado melhor eficiência à medida que a temperatura de extração é inferior à temperatura crítica, ou seja, é subcrítica. Este é um fator importante relacionado aos custos do processo, pois gera um menor gasto energético (PEREIRA; MEIRELES, 2010). A Tabela 2 apresenta pesquisas em que foi utilizada a água subcrítica na obtenção de compostos bioativos.

Tabela 2 - Trabalhos em que a água subcrítica foi utilizada para obtenção de compostos bioativos a partir de diferentes fontes vegetais.

Composto	Fonte da planta	Referência
Withanolides (Vitanolídeos)	Ashwagandha (ginseng indiano)	Nile *et al* (2019)
Frações enriquecidas em β-glucan	Cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*)	Morales *et al.* (2019)
Isoflavonas	Quiabo	Nkurunziza *et al*. (2019)
Flavonóide	Casca de cebola	Munir *et al*. (2018)
Ginsenosídeos, maltol	Raízes de ginseng (*Panax ginseng)* CA Meyer	Lee, Ko e Chung (2018)
Fucoidan	*Saccharina japonica*	Saravana *et al.* (2018)
Derivados do Kaempferol	Alho selvagem	Tomšik *et al*. (2017)
Apigenina	Flores liguladas de camomila	Cvetanović *et al*. (2017)
Fenóis, flavonóides e ácido glicirrízico	Alcaçuz	Fan *et al*. (2016)
Compostos antimicrobianos e anti-hipertensivos	Grão de café verde	Getachew e Chun (2016)
Polifenóis	Sementes e cascas de uvas	Duba *et al*. (2015)
Ácido betulínico	Casca de bétula	Liu *et al.* (2015)
Licopeno e β-caroteno	Melancia: casca e carne	Kim *et al.* (2014)
Compostos fenólicos	Sementes de romã	He *et al.* (2012)
Compostos fenólicos	Casca de batata	Singh e Saldaña (2011)

Fonte: O autor (2021).

Segundo Essien, Young e Baroutian (2020), existem fatores importantes para se considerar na extração com água subcrítica. Durante o processo de extração as propriedades mais relevantes da água são alteradas, o que modula essas propriedades são os parâmetros termodinâmicos presentes do processo, sendo importante observar os parâmetros como pressão, temperatura, tempo de extração, proporção de solvente, vazão e tamanho da partícula.

A pressão tem como função principal na EAP manter a água acima do ponto de ebulição, de modo que ela permaneça em estado líquido. Outra contribuição importante da pressão é facilitar a dissolução do material extraído, sendo a EAP diretamente dependente da pressão, pois variações bruscas de pressões no processo possuem influência significativa na eficiência da extração (KO; CHEIGH; CHUNG, 2014). Cvetanović *et al*. (2017) realizaram a EAP de flores de camomila a temperatura de 100ºC por de 30 min em condições de pressões distintas. Eles observaram que para a pressão de 30bar a concentração de fenóis foi de 181,51 mg CAE/g (equivalente de ácido clorogênico por grama de material vegetal seco). Já as concentrações totais de fenóis obtidas em 45, 60 e 90bar foram 149,51, 139,69 e 154,54 mg CAE/g,

respectivamente, ocorrendo uma diminuição do teor de flavonóides e apigenina. Porém, através dos resultados das análises estatísticas, perceberam que não houve diferença significativa entre os valores obtidos a 45 e 90bar. E, desta forma, afirmaram que para a extração eficiente desses compostos bioativos não requeria altas pressões.

As alterações nas propriedades físico-químicas da água também geram um aumento significativo na transferência de massa e proporcionam a capacidade de solubilizar de uma ampla faixa de compostos bioativos, incluindo as substâncias que são insolúveis em água em temperatura ambiente. Entretanto, temperaturas mais elevadas do que o processo requer podem causar a diminuição na concentração dos compostos alvo, sendo isso devido, principalmente, à degradação do soluto ou à transformação molecular (MUNIR *et al.* 2018). Os compostos alvos de matérias vegetais possuiem uma faixa de temperatura adequada para sua extração, sendo então de grande importância a definição desta faixa de temperatura ideal (GALLEGO; BUENO; HERRERO, 2019). Esse fato também foi observado por Belwal *et al.* (2018), Plaza e Turner (2015) e Shitu, Izhar e Tahir (2015).

O tempo de extração é um parâmetro que possui forte correlação com os resultados do processo de extração de compostos de materiais vegetais (SARFARAZI *et al*. 2019). As rápidas taxas de dissolução ou degradação dos materiais ocorrem no início da extração, progridem com o tempo e diminuiem ao decorrer do tempo de extração. Esse comportamento é influenciado por fatores como a temperatura, as adaptações em cada equipamento, a natureza da planta e o composto alvo. Durante a extração, o processo atinge um limite devido à solubilidade dos compostos no solvente ou por causa esgotamento de compostos. Um longo tempo de extração pode ocasionar a degradação dos compostos, por existir estabilidade térmica de compostos bioativos em altas temperaturas, o tempo extenso faz com que o rendimento dos compostos comece a entrar em declínio (FAN *et al*. 2016).

A proporção de solvente depende da razão solvente em relação à amostra (sólido). Essa razão (solvente/amostra) também afeta a solubilidade dos compostos alvo (KO; CHEIGH; CHUNG, 2014). O aumento desse parâmetro provoca um aumento no gradiente de concentração dos solutos, o que permite uma maior taxa de extração. Para se determinar uma proporção ideal de solvente deve-se analisar fatores como o tempo de extração, os componentes desejados e os fatores econômicos. Uma proporção ideal de solvente mantém o gradiente de concentração adequado entre a matriz da amostra e o solvente durante grande parte do tempo de extração (CVETANOVIĆ *et al.* 2017).

A vazão influencia no controle cinético de cada estágio da EAP. Por ser um sistema que opera de modo contínuo, a vazão afeta a taxa de extração alterando o equilíbrio e concedendo maior fluxo de solvente. Dessa forma, podem ser realizadas extrações mais rápidas, pois o tempo de contato entre o solvente e a amostra é reduzido. A desvantagem da extração em vazões muito altas é a produção de extratos muito diluídos, devido a esse menor contato entre o solvente e a amostra. Tornando necessária a realização de mais etapas para extrair uma concentração maior de compostos, o que gera mais custos e tempo de produção adicional (LACHOS-PEREZ *et al.* 2018). Koyu e colaboradores (2017) realizaram a extração de compostos da casca de laranja visando analisar o efeito das as variáveis temperatura (40, 60 e 80°C), tempo de extração (20, 40 e 60 min) e vazão (2, 4 e 6 ml/min), a pressão contante de 150bar. Eles concluíram que as condições ótimas de extração foram obtidas em 60°C e 120ºC, 60 min e 2 ml/min, sendo a temperatura determinante para a presença de um composto específico, entretanto a maior atividade antioxidante foi observada nos extratos obtidos com vazão de 2 ml/min.

Segundo Munir *et al*. (2018), o tamanho da partícula está diretamente relacionado com a superfície de contato entre o solvente e a amostra, quanto menor o tamanho de partícula maior a superfície de contato. Eles observaram que o conteúdo de polifenóis do extrato da casca de cebola em água subcrítica aumentou com a diminuição do tamanho das partículas, sendo os maiores rendimentos de extração obtidos para utilização de partículas menores. Perceberam também que com a elevação da temperatura e diminuição da viscosidade da água e da tensão superficial ocorreu uma melhor penetração das partículas no reator e, consequentemente, maior extração de compostos fenólicos, obtendo uma maior atividade antioxidante.

Devido as vantagens que a técnica de extração com líquidos pressurizados possui, ela é utilizada para obtenção de produtos existentes no mercado como, por exemplo, a descafeinação de café e chá, a obtenção de óleos essenciais, a extração e purificação de carvão mineral, a impregnação de conservantes naturais em alimentos e a purificação de polímeros especiais (lentes de contato, material odontológico). Uma das restrições para o uso desta técnica está associada aos custos de processos a alta pressão. Todavia, pesquisas mostram que extrações sob altas pressões e temperaturas podem ser economicamente viáveis somente com produtos de alto valor agregado, sendo um fator importante nessa avaliação os rendimentos dos compostos obtidos (VEGGI; CAVALCANTI; MEIRELES, 2014).

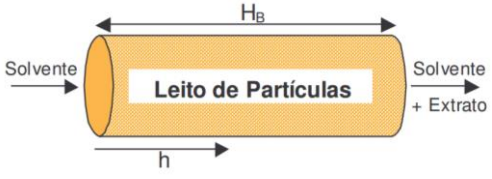
2.5. AVALIAÇÃO CINÉTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA NA EXTRAÇÃO COM ÁGUA PRESSURIZADA

Modelos matemáticos podem ser utilizados para prever e/ou monitorar o comportamento de um processo através de uma correlação de dados (ESSIEN; YOUNG; BAROUTIAN, 2020). A modelagem matemática tem como finalidade fornecer uma representação do processo fazendo uso de um sistema de equações composto por parâmetros com significado físico (CARDOZO-FILHO; FERRUA; MEIRELES, 1997). É válido utilizar-se dela para realizar otimização das condições dos processos de extração através da construção de curvas experimentais modeladas do processo em estudo (MARTÍNEZ *et al*. 2003). Visto que o processo de extração possui um comportamento contínuo, seu fluxo é medido pela quantidade de extrato e o tempo de extração ou consumo do solvente, para o caso de um fluxo semi-contínuo. Assim, a quantidade de extrato que é obtida durante a extração é perceptível através de modelos matemáticos que preveem o seu rendimento (BRUNNER, 2009).

As curvas da taxa de extração são usadas para descrever os mecanismos de transporte de massa em termos de rendimentos, taxas de fluxo, tempo, matriz da amostra e propriedades do solvente, nas condições de extração (NKURUNZIZA; PENDLETON; CHUN, 2019). A análise do comportamento por meio das curvas é importante para o monitoramento e o controle de processos, sendo pertinente destacar que isso dependerá do material vegetal e dos extratos ou compostos bioativos escolhidos. A escolha de modelos que possam prever a taxa que o material pode ser extraído é essencial para realização uma otimização eficaz do processo (ESSIEN; YOUNG; BAROUTIAN, 2020).

Para desenvolver um balanço de massa durante o processo de EAP, deve-se considerar o leito fixo do sistema de forma cilíndrica e que seja formado por partículas do material vegetal dispostas de forma homogênea. No leito, o solvente escoa axialmente e o extrato do material vegetal utilizado é solubilizado pelo solvente conforme ilustrado na Figura 4, onde Hb corresponde ao comprimento do leito e h à sua coordenada axial (MARTÍNEZ, 2005).

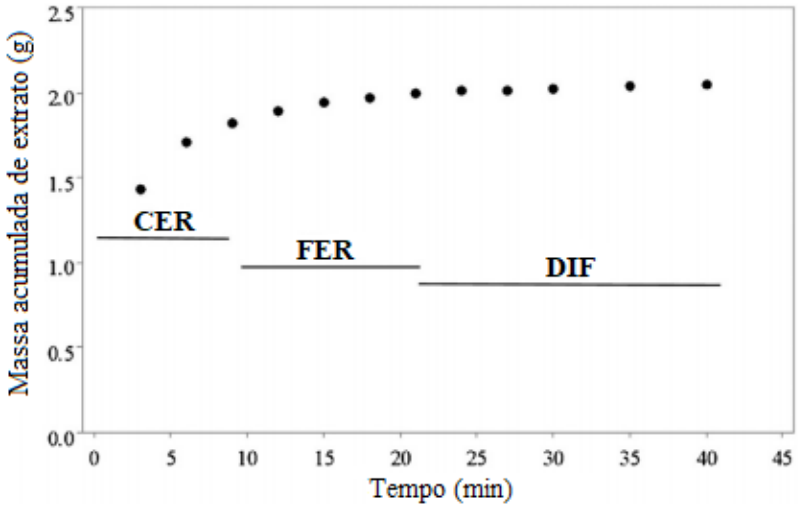
Figura 4 – Sistema de extração em leito fixo.



Fonte: Adaptado de Martínez (2005).

As curvas gerais obtidas com os dados brutos para a extração são comumente caracterizadas por três etapas diferentes. No período inicial o rendimento da extração aumenta com o tempo, caracterizado por um mecanismo de transferência de massa por convecção com uma taxa de extração constante em toda superfície soluto. Após esse período ocorre uma redução do fluxo de extração, sendo um período que combina mecanismos de convecção e difusão. O terceiro período é controlado por difusão e é relacionado à extração de soluto das partículas que podem ainda estar intactas no processo, com mínimos valores de massa extraída. (RODRIGUES *et al*. 2020b). A Figura 5 apresenta o comportamento de uma curva geral de extração. Pode-se observar a presença de três etapas no processo, taxa de extração constante (CER - Constant Extraction Rate), taxa de extração em queda (FER - Falling Extraction Rate) e período de difusão (DIF - Diffusional period).

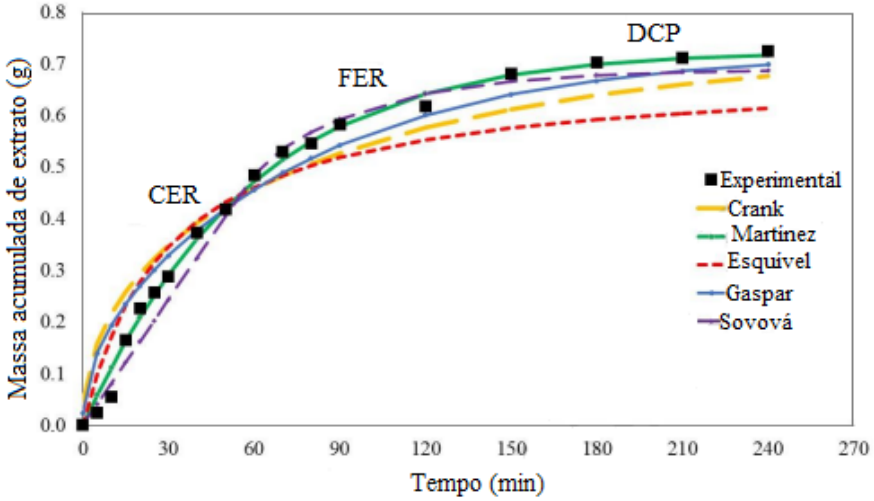
Figura 5 - Curva geral de extração.



Fonte: Adaptado de Rodrigues *et al*. (2020b).

Maia e colaboradores (2018) avaliaram os extratos bioativos de mangaba (*Hancornia speciosa*) obtidos pelos processos em pressão atmosférica e alta pressão, com objetivo de analisar a eficiência da técnica utilizada e o potencial antioxidante dos extratos. Eles determinaram a curva geral cinética de extração com fluido supercrítico pelos modelos de Crank, Martínez, Esquível, Gaspar e Sovová, sendo realizada a 300 bar, 60 °C e com fluxo de CO_2 de 8,33 $g \cdot min^{-1}$. Observaram o modelo de Martínez apresentou o melhor ajuste em comparação com os demais modelos aplicados. A Figura 6 mostra a curva experimental de extração da mangaba (amostra seca) por fluido supercrítico e as curvas da modelagem matemática aplicada ao processo.

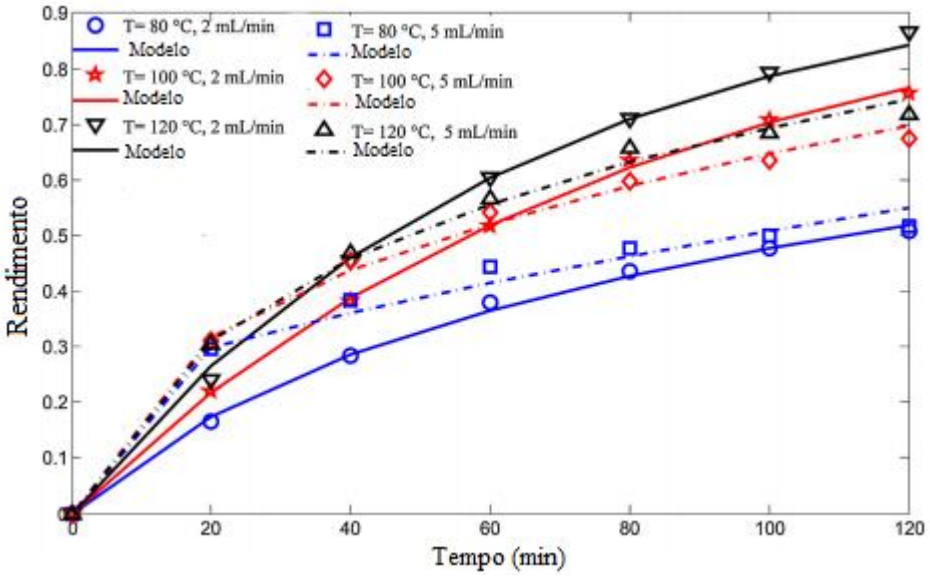
Figura 6 – Curva geral de extração por fluido supercrítico da mangaba com rendimento da massa acumulada do extrato. Condições: 300bar, 60 ° C e fluxo de CO_2 de 8,33 g·min^{-1}.



Fonte: Adaptado de Maia *et al*. (2018).

Duba *et al*. (2015) realizaram a extração de polifenóis de cascas e sementes de uva através da EAP. Eles projetaram curvas da cinética de extração com o rendimento do teor de polifenóis totais em diferentes temperaturas e taxas de fluxo do solvente, com a pressão constante de 100 bar utilizando o modelo cinético de dois locais. Observaram que o modelo se ajustou às curvas cinéticas experimentais de forma satisfatória e que a EAP possui eficiente capacidade de extrair polifenóis valiosos de subprodutos de processamento de alimentos. A Figura 7 apresenta o rendimento em diferentes temperaturas e taxas de fluxo do solvente.

Figura 7 – Rendimento de compostos fenólicos (adimensional) do extrato bruto da EAP das cascas de uvas. Dados experimentais e curvas dos modelos.



Fonte: Adaptado de Duba *et al.* (2015).

2.5.1. Modelo de Martínez

O modelo de Martínez é um modelo matemático baseado no balanço diferencial de massa no leito do extrator. A aplicação deste modelo é realizada em sistemas que consideram o extrato como um único pseudocomponente e em sistemas multicomponentes, considerando como uma mistura de vários grupos de compostos, que são definidos de acordo com suas estruturas químicas. Esse modelo considera o balanço de massa tanto na fase sólida quanto na fluida, ocorrida no interior do leito de extração. O acúmulo e a dispersão são desprezados, pois assume-se que ambos não causam efeitos significativos no processo quando comparados com a convecção. Nele representa-se o termo de transferência de massa interfacial por uma das soluções da equação logística. No modelo logístico, assume-se que o tempo tende ao infinito, a massa de extrato tende a um valor fixo, assintoticamente, e o seu valor deve ser considerado como o total de massa extraída. Com isso, tem-se as condições iniciais da equação do processo estudado (MARTÍNEZ *et al*. 2003).

Através do desenvolvimento matemático de França e Meireles (2000) e do modelo proposto por Martínez *et al*. (2003), foi determinada a função do termo Si que foi descrita na Equação 1. Eles se basearam na equação logística de Verhulst (1838), que foi aplicada para modelar a extração dos diversos grupos de compostos bioativos de extratos, conforme mostra a Equação 2.

$$\mathrm{J}(X,Y) = S = \sum_{i=1}^{n} Si \tag{1}$$

em que J(X,Y) é o fluxo de transferência de massa na interface sólido-fluido e Si é uma função relativa à solubilidade do componente i.

$$S_i(t) = \frac{A_i b_i exp[b_i(t_{mi}-t)]}{\{1+exp[b_i(t_{mi}-t)]\}^2} \tag{2}$$

em que t é o tempo de extração e A_i, b_i, t_{mi} são parâmetros ajustáveis.

O balanço de massa para a fase fluida pode ser expressado pela Equação 3, onde o termo J(X, Y) é dado pelas Equações 1 e 2.

$$u\frac{\partial y}{\partial h} = \frac{J(X,Y)}{\varepsilon} \tag{3}$$

Usando a condição inicial Y(h=0)=0 e integrando a Equação 3, obtém-se na saída do extrator.

$$Y(h = H) = \frac{H_B}{U\varepsilon}\sum_{i=1}^{n} S_i \quad (4)$$

em que Si é dado pela Equação 2. Integrando a Equação 4 com a condição inicial m(h=Hb, t=0)=0 obtém-se a equação da curva de extração para cada grupo de compostos. O modelo é então definido pela Equação 5 apresentada a seguir.

$$m_i(h = H_B)\frac{X_{0i}m_t}{\exp(b_i t_{mi})}\left\{\frac{1 + (b_i t_{mi})}{1 + \exp[b_i(t_{mi} - t)]} - 1\right\} \quad (5)$$

em que m_i representa a massa de extrato em função do tempo (g); h é a coordenada axial (m); H é o comprimento total do leito (m); t representa o tempo de extração (min); X_{0i} é a razão mássica de extrato no substrato; m_t representa a massa de substrato alimentada no leito fixo (g); b_i é o parâmetro ajustável (min-^{1}) e t_{mi} é o parâmetro ajustável correspondente ao instante no qual a taxa de extração assume o seu valor máximo (min).

2.5.2. Modelo de Esquível

A construção do modelo de Esquível foi baseada na avaliação de três modelos matemáticos que simulassem curvas de extração com cascas de azeitonas. Dois desses modelos propuseram balanço de massa com equações diferenciais que descrevem curvas de extração global e o outro modelo foi fundamentado na cinética de crescimento microbiano de Monod. O rendimento é representado em função do tempo de extração. Por ser um modelo empírico, não são consideradas as interações entre o soluto e a material vegetal e o modelo possui apenas um parâmetro ajustável sobre transferência de massa. Embora a equação empírica seja baseada na extração de óleo da casca de azeitona, através das curvas experimentais, pode-se utilizar como um modelo de regressão linear para avaliar extrações de diversas matrizes vegetais (ESQUÍVEL; BERNARDO-GIL; KING, 1999).

Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) utilizaram uma equação empírica simples (Equação 6) para representar o rendimento de extração em função do tempo de extração, sendo esta aplicada para ajustar as curvas de extração do óleo de casca de oliva.

$$e = e_{lim}\left(\frac{t}{b + t}\right) \quad (6)$$

em que e é a razão entre a massa de óleo obtida no tempo t (s) e a massa inicial alimentada da matéria-prima ($m_{extrato}/m_{alimentada}$); e_{lim} representa o valor de e para o tempo de extração infinito

e b é uma constante que não tem significado físico, dependente da vazão mássica, temperatura e pressão.

O parâmetro e_{lim} geralmente depende apenas do material a ser extraído, pois leva-se em consideração o teor inicial do óleo presente na matriz vegetal. A fração (e_{lim}/b) representa a inclinação inicial da curva de extração (e versus t) . O rendimento (e) é uma função crescente da dissolução do soluto na extração e da taxa de fluxo do solvente no leito. Por isso, na equação 6, b pode representar uma função da vazão mássica, temperatura e pressão.

A Equação 7 descreve o comportamento da extração em função do modelo proposto por Esquível:

$$M_{Ext} = X_0 m_t \left(\frac{t}{b+t}\right) \tag{7}$$

em que M_{Ext} representa a massa de extrato em função do tempo (kg); X_0 é a razão mássica de extrato na matéria-prima (kg/kg); m_t representa a massa de sólido no extrator; t é o tempo de extração (min) e b representa um parâmetro ajustável (min^{-1}).

Piva *et al*. (2018) usaram quatro modelos matemáticos (Tan e Liou, Martínez, Esquível e Sovová) para investigar o processo de extração do óleo de linhaça (*Linnum usitatissimum*) com propano subcrítico nas condições de 20 e 60 °C a 80bar, 20 e 60°C a 120bar e 40°C a 100bar. Eles observaram que o melhor ajuste dos dados experimentais foi obtido para o modelo de Esquível, descrevendo este adequadamente as curvas cinéticas de extração experimental.

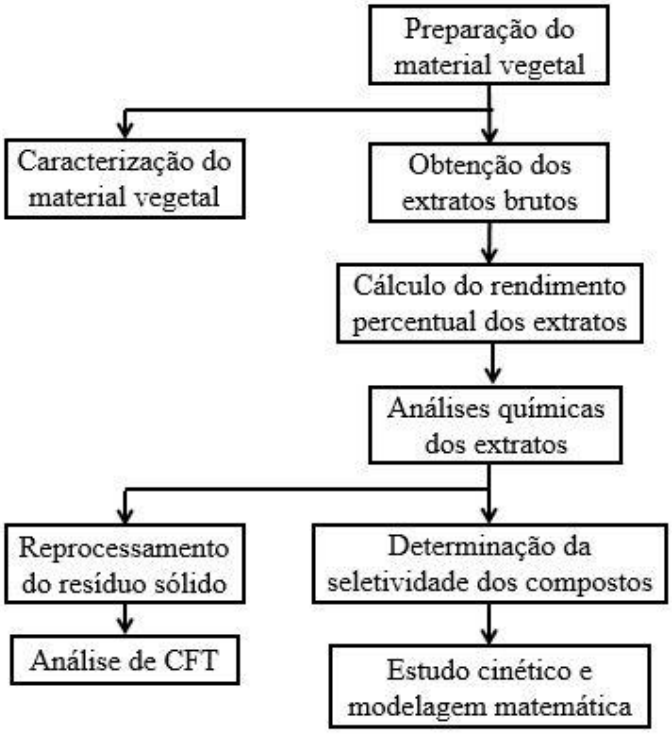
De Andrade Lima e colaboradores (2018) aplicaram os modelos de Naik, Esquível, Martínez e Tan e Liou na extração com CO_2 supercrítico de carotenóides de cascas de cenoura nas condições de 58,5°C a 306bar e 59°C a 349bar, utilizando etanol como solvente. Perceberam que apenas os modelos de Esquível, Naik e Tan e Liou poderiam ser empregados para descrever o processo de extração, pois estes apresentaram altos valores do coeficiente de determinação (R^2) e baixos erros experimentais.

Díaz-Reinoso, Moure e Domínguez (2020) obtiveram curvas de extração supercrítica com castanhas a 45 ° C e 20 MPa com etanol 10% como modificador, a uma taxa de fluxo de CO_2 de 20 g/min. Eles utilizaram os modelos de Tan e Liou, Esquível, Martínez e Sovová no estudo do processo de extração. Observaram que os modelos de Martínez e Tan e Liou apresentaram os bons ajustes aos dados experiementais, sendo o modelo de Sovová o que apresentou o menor erro quadrático médio (EQM) e o maior coeficiente de determinação (R^2).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são descritos os materiais e métodos utilizados para a obtenção e avaliação dos extratos das folhas de cajazeira. Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Combustíveis (LAC), localizado no Laboratório Integrado de Tecnologia em Petróleo, Gás e Biocombustíveis (LITPEG) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), sendo conduzido em parceria com o Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE. A Figura 8 mostra o fluxograma das etapas realizadas no desenvolvimento deste trabalho.

Figura 8 – Fluxograma das etapas do trabalho.



Fonte: O autor (2021).

3.1. MATERIAL VEGETAL

As folhas de cajazeira (*Spondias mombin* L.) foram coletados na zona rural do município de Limoeiro-PE (7°55'37.8"S, 35°30'18.2"W) e depositadas no herbário do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA-PE) de número 90169. Em seguida, o material foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar (Lucadema®) durante 7 dias sob temperatura de 40 °C. Posteriormente, foram trituradas em moinho de facas (Willey, Tecnal®), acondicionadas em potes de polietileno e armazenadas a temperatura ambiente.

3.2. CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A de caracterização do material vegetal utilizada neste trabalho foi o teor de umidade e a análise granulométrica.

3.2.1. Teor de umidade (%)

O teor de umidade foi determinado utilizando uma balança de infravermelho (série ID-V.18, Marte®) em que ocorre o aquecimento de 1g do material vegetal na temperatura de 130°C até obter peso constante. A balança emite um sinal sonoro após o término do processo. O método foi realizado com três repetições e a quantidade total de água contida nas folhas de cajazeira foi expressa em porcentagem (%).

3.2.2. Análise granulométrica

A análise das partículas para a granulometria foi determinada utilizando o *software* ImageJ 1.8.0. Foi realizada a aproximação da geometria das partículas à geometria de um paralelogramo, assumindo a equivalência da área da seção transversal deste à área de uma esfera para a posterior determinação do diâmetro médio das partículas que formam o leito de extração. Nesta análise foram consideradas as partículas mais segmentadas para uma média expressas em micrometro (μm).

3.3. EXTRATOS TOTAIS

A obtenção dos extratos brutos das folhas de cajazeira foi realizada por três técnicas de extração, sendo duas destas utilizando extrações a pressão atmosférica (turbólise e ultrassom) e uma técnica em altas pressões (extração com água pressurizada).

3.3.1. Extração por turbólise

Na extração por turbólise (ET) os extratos foram obtidos obedecendo a razão sólido/solvente de 1:20 (m/v). Os solventes utilizados foram água, etanol e uma solução hidroetanólica 70:30 (v/v). O material vegetal juntamente com os solventes foi submetido à extração em um liquidificador industrial (Metvisa®) por quatro ciclos de 30 segundos sob

agitação e, posteriormente, 4 minutos com a solução extrativa em repouso. Após o término dos ciclos foi realizada filtração a vácuo da solução obtida, para a separação do resíduo vegetal, e em seguida os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e armazenados sob refrigeração até seguirem para as análises.

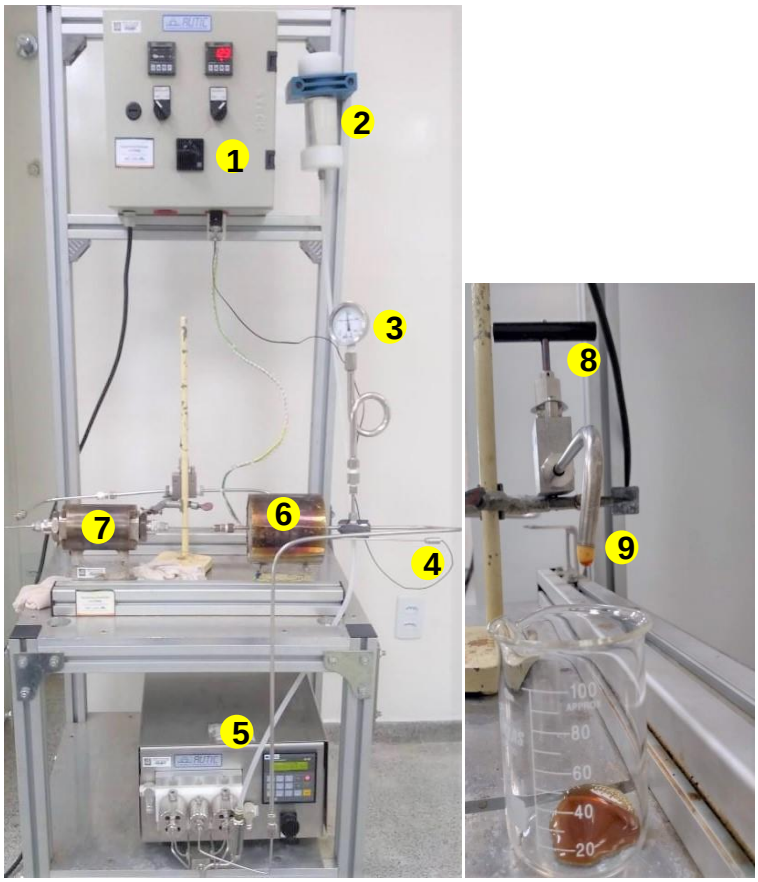
3.3.2. Extração assistida por ultrassom

As extrações assistidas por ultrassom (EAU) foram realizadas utilizando um banho ultrassônico (Ultracleaner, Unique®) que permite a extração de diferentes amostras de forma simultânea. Foram depositadas 5g das folhas de cajazeira em erlenmeyers contendo 100 mL de solvente, sendo estes água, etanol e uma solução hidroetanólica 70:30 (v/v). A extração ocorreu na temperatura ambiente por um período de 15 min. Após o término, realizou-se filtração a vácuo dos extratos, sendo em seguida acondicionadas em frascos âmbar e armazenados sob refrigeração até a realização das análises.

3.3.3. Extração com água pressurizada

A extração com água pressurizada (EAP) foi realizada utilizando um reator de fluxo semicontínuo construído inteiramente de aço inox. Este reator possui como condições máximas de trabalho 400°C e 400bar. Para pressurizar a água no reator foi usada uma bomba de líquido a alta pressão que foi monitorada por um manômetro convencional. Em relação ao aquecimento do solvente (água), um sistema de pré-aquecimento elétrico foi adicionado ao equipamento para este fim. A temperatura do processo foi controlada por um termopar posicionado na entrada do pré-aquecedor. A descompressão do sistema foi feita através de uma válvula micrométrica manual instalada na saída do reator. A Figura 9 apresenta o equipamento utilizado para realização da EAP, seguindo a seguinte codificação: (1) controlador de temperatura, (2) reservatório da água, (3) manômetro, (4) termopar, (5) bomba de líquido, (6) pré-aquecedor, (7) extrator, (8) válvula micrométrica manual, (9) coleta das amostras.

Figura 9 – Equipamento utilizado para realização da EAP.



Fonte: O autor (2021).

Os extratos totais foram obtidos nas temperaturas de 80, 100 e 120 ºC e pressões de 100 e 200 bar, durante 60 min de extração. Este tempo de extração foi escolhido baseando-se em valores encontrados na literatura. Foram pesadas 10 g das folhas de cajazeira e empacotadas no reator, sendo o restante do volume preenchido com esferas de vidro, mantendo constante a altura do leito das partículas. Após conectar todo o sistema do reator, a bomba de líquido foi ligada para encher o reator com água removendo o ar residual e pressurizando o equipamento. Após a pressurização, o sistema de pré-aquecimento foi ligado e ajustado para atingir a temperatura de extração desejada.

Quando a temperatura desejada foi atingida, todo o reator foi revestido de lã de vidro, com o intuito de criar um isolarmento térmico mantendo a temperatura constante em todo procedimento. A coleta do extrato iniciou quando o bombeamento de água atingiu uma vazão constante de 3 mL/min com a pressão testada. Os extratos foram coletados após a descompressão da válvula, sendo acondicionados em frascos âmbar e armazenados sob refrigeração. Foram realizados 6 ensaios em duplicata nas condições de temperatura e pressão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Condições de temperatura e pressão dos ensaios da EAP.

Ensaio	Temperatura (ºC)	Pressão (bar)
$EAP_{80/100}$	80	100
$EAP_{80/200}$	80	200
$EAP_{100/100}$	100	100
$EAP_{100/200}$	100	200
$EAP_{120/100}$	120	100
$EAP_{120/200}$	120	200

Fonte: O autor (2021).

3.4. RENDIMENTO DOS EXTRATOS

Para estimar a eficiência das técnicas de extração foi calculado o rendimento percentual dos extratos (RND (%)). A obtenção dos rendimentos foi realizada utilizando uma balança de infravermelho (série ID-V.18, Marte®) em que ocorre o aquecimento de 5 mL do extrato à temperatura de 130 °C até obter peso constante. O método foi realizado com três repetições e o teor do sólido seco foi expresso em porcentagem (%).

3.5. ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS

As análises químicas dos extratos foram realizadas para identificação e classificação dos compostos neles presentes. As técnicas de análise química utilizadas neste trabalho foram: análise de compostos fenólicos totais (CFT) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

3.5.1. Compostos Fenólicos Totais (CFT)

A determinação dos compostos fenólicos totais (CFT) presentes nos extratos das folhas de cajazeira foi adaptada da metodologia de Folin e Ciocalteau (1927). As leituras de absorbância foram realizadas em um espectrofotômetro (Evolution 60S, Thermo Fisher Scientific®) com comprimento de onda de 760 nm. A análise foi realizada com três repetições e resultado expresso em mg EAG/g extrato (miligramas de equivalente a ácido gálico por grama de extrato).

Para preparar as soluções de leitura foram pipetados, utilizando micropipeta monocanal,

20 microlitros de cada amostra para balão volumétrico de 10 mL. Neste mesmo balão foram adicionados 5 mL de água e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu, sendo o volume do balão completado com solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 7,5%. As leituras foram realizadas após a solução ficar 30 minutos em repouso na ausência de luz à temperatura ambiente. A água destilada foi utilizada como branco nas leituras.

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi calculado em porcentagem, expressos em g% de pirogalol, segundo a Equação 8:

$$\mathrm{CFT} = \frac{FD * A_1 * m_2}{A_2 * m_1} \tag{8}$$

em que FD é o fator de diluição calculado, A_1 é a absorbância da amostra, m_2 é a massa do padrão pirogalol (g), A_2 é a absorbância da solução padrão pirogalol e m_1 é a massa da amostra (g), sendo esta a quantidade de massa da matéria-prima que foi usada para fazer a extração.

O fator de diluição total foi calculado utilizando a Equação 9:

$$FD = \frac{FD\ amostra}{FD\ padrão} * 100 \tag{9}$$

Os dados do padrão pirogalol utilizados foram m_2 = 0,05 g; A_2 = 0,386 e FD = 25000.

O pirogalol ou ácido pirogálico pertence à família dos compostos fenólicos, solúvel tanto em água como em etanol. Ele foi descoberto por Scheele em 1786, pelo aquecimento do ácido gálico, sendo isolado e identificado por Bracconot em 1832. Desta forma, é possível expressar os resultados diretamente em equivalentes de ácido gálico, pois o pirogalol é um composto oriundo do ácido gálico (ARAUJO *et al*. 2015, SINGH, 2010).

Para realização de comparação dos dados obtidos com a literatura, neste trabalho os resultados de CFT foram expressos em equivalentes de ácido gálico em miligramas (mg de EAG/g de amostra), pois esta é a unidade mais comumente utilizada em trabalhos sobre extração de materiais vegetais com fluidos pressurizados como solvente.

3.5.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A determinação do perfil fitoquímico das folhas de cajazeira foi realizada utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), identificando e quantificando os compostos fenólicos presentes nos extratos das folhas. Neste trabalho, todas as análises por CLAE foram realizadas em triplicata.

As amostras foram preparadas utilizando balões volumétricos de 25 mL. Alíquotas dos

extratos foram transferidas para os balões e o volume foi aferido com água ultrapura (Purelab Classic UV, Elga®), obtendo-se soluções de mesma concentração, sendo esta 1,2 mg/mL. Em seguida foram filtradas para *vials* com auxílio de filtro PVDF de 0,45 µm (Chromafil®).

O padrão ácido gálico foi preparado em água ultrapura, o padrão ácido elágico foi preparado em metanol:água na proporção 3:2 (v/v), o padrão ácido clorogênico foi preparado em metanol:água na razão 1:1 (v/v) e o padrão rutina foi preparado em metanol:água na proporção 1:1 (v/v). Todos os reagentes utilizados foram da marca Sigma-Aldrich®. As soluções obtidas foram filtradas para vials com auxílio de filtro PVDF de 0,45 µm (Chromafil®).

A análises por CLAE foram realizadas em um sistema Ultimate 3000 acoplado a um detector arranjo de diodos (DAD), equipado com bomba binária (HPG-3x00RS), desgaseificador e amostrador automático equipado com um loop de 20 µL (ACC-3000), sendo todos estes da marca Thermo Fisher Scientific®. O comprimento de onda utilizado foi 270 nm.

As separações cromatográficas foram obtidas com uma coluna C18 de 250 mm x 4,6 mm d.i. e 5 µm (Supelco®), equipada com pré-coluna C18 de 4 mm x 3,9 m (Phenomenex®). As separações foram efetuadas na temperatura de 25 ± 1ºC. A fase móvel foi constituída por água ultrapura (A) e metanol (B), ambos acidificados com ácido trifluoroacético a 0,05% e fluxo ajustado a 0,7 mL/min. Um programa de gradiente foi aplicado da seguinte forma: 0 a 10 min, 20-30% de B; 10 a 24 min, 30-40% de B; 24 a 30 min, 40-75% de B; 30 a 34 min, 75-15% de B e 34 a 37 min, 15% de B.

Para análise e processamento dos dados foi utilizado o software Chromeleon 6.8 (Dionex/Thermo Fisher Scientific®). Os teores foram calculados segundo as equações das retas dos padrões ácido gálico, ácido elágico, ácido clorogênico e rutina seguindo a metodologia descrita por Machado (2018).

3.6. DETERMINAÇÃO DA SELETIVIDADE DOS COMPOSTOS

A seletividade dos compostos extraídos pelas diferentes técnicas de extração e solventes utilizados neste trabalho foi obtida utilizando a Equação 10.

$$Si,j = \frac{Xi}{Xj} \tag{10}$$

em que a seletividade (Si, j) é a seletividade do composto i em relação ao composto j, sendo $\frac{Xi}{Xj}$ a razão entre a concentração do composto i e a concentração do composto j.

3.7. AVALIAÇÃO CINÉTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA DA EAP

A avaliação cinética da EAP foi realizada na condição que obteve o mais alto resultado para compostos fenólicos totais, apresentado na Tabela 6. Seu objetivo foi estudar o percentual de compostos fenólicos totais ao longo do tempo de extração, ou seja, tempo de operação do reator. Segundo Cvetanović *et al*. (2017), as condições de extração afetam diretamente a eficiência do processo e, consequentemente, alteram o teor dos compostos-alvo nos extratos obtidos. Os procedimentos seguidos na realização da extração para o ensaio cinético foram semelhantes aos descritos no item 3.4.3.

A EAP foi realizada no sistema do extrator apresentado na Figura 9. As condições de temperatura e pressão utilizadas foram de 80 °C e 200 bar, sendo utilizada 10 g de folhas de cajazeira. Para construção da curva da EAP foram coletadas amostras nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos. Foram utilizados frascos âmbar para coleta, identificados e previamente pesados em balança analítica. Ao final de cada coleta os frascos foram novamente pesados para determinar a massa de extrato aquoso e armazenados sob refrigeração.

A modelagem matemática das curvas de extração tem o intuito de predizer o processo sobre diferentes condições e materiais vegetais pesquisados. Serve também como base tanto para modelos empíricos simples quanto mais complexos, sendo assim uma ferramenta segura para a simulação e otimização de tecnologias industriais (DASH; MOHANTY, 2021).

Para a realização da modelagem matemática da curva de extração deste trabalho foram utilizados os modelos de Martínez e Esquível, descritos no item 2.5. As curvas de extração foram geradas no programa *Mass Transfer*, desenvolvido por Correia *et al*. (2007) do Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica da Universidade Federal de Santa Catarina (LATESC), que utiliza o método da máxima verossimilhança para minimizar a soma dos quadrados dos desvios calculados (KITZBERGER *et al*. 2009).

3.8. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO SÓLIDO REPROCESSADO DA EAP

O reprocessamento do resíduo sólido (RS), isto é, o material vegetal (folhas de cajazeira)

presente no extrator após o encerramentoda EAP, foi realizado com a finalidade de verificar se ainda haviam compostos fenólicos a serem extraídos após o tempo total de extração na EAP. Foram utilizados para esta avaliação os resíduos sólidos coletados das extrações que obtiveram maior e menor teor de compostos fenólicos. Após a coleta, os resíduos foram submetidos a um reprocessamento, sendo uma nova extração realizada por meio das técnicas de turbólise e ultrassom. Para a técnica de turbólise foram utilizadas 15 g do resíduo e 300 mL de solvente hidroetanólico 70:30 (v/v). Já na extração assistida por ultrassom utilizaram-se 5g do resíduo e 100mL de solvente hidroetanólico 70:30 (v/v).

3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada para verificar a confiabilidade dos dados obtidos nas extrações realizadas utilizando as três técnicas. A verificação foi feita nos resultados obtidos das análises dos extratos por CLAE e CFT. A análise estatística foi realizada utilizando o software *Statistica* 7.0, através da análise de variança (ANOVA), sendo a comparação múltipla das médias realizada pelo teste de Tukey a um nível de 95% de significância ($p<0.05$). Os resultados da análise foram expressos como média ± desvio padrão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados referentes à caracterização do material vegetal e avaliação das técnicas de extração a altas pressões (água subcrítica pressurizada) e pressão atmosférica (turbólise e ultrassom) pressões na obtenção dos extratos da folha de cajazeira. São apresentados resultados da avaliação e comparação dos rendimentos das extrações realizadas pelas três técnicas, análise química dos extratos, seletividade dos compostos, cinética e modelagem matemática do processo da EAP e reprocessamento dos resíduos sólidos da EAP.

4.1. CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal foi caracterizado pelas técnicas de teor de umidade e análise granulométrica, os resultados são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Caracterização das folhas de cajazeira.

Material Vegetal	Teor de umidade (%)	Diâmetro médio de partícula (μm)
Folhas de cajazeira	10,56 ± 0,4013	255 ± 0,0004

Fonte: O autor (2021).

Como pode ser observado na Tabela 4, as folhas depois de secas e moídas apresentaram umidade de 10,56 % e diâmetro médio de partículas de 255 μm. Segundo Chemat e Vian (2014) a redução do diâmetro de partícula pode proporcionar maiores rendimentos na extração, porém diâmetros muito pequenos podem ocasionar compactação excessiva no leito do extrator e, consequentemente, gerar efeitos indesejáveis ao processo.

A umidade presente no material vegetal só possui influência direta na eficiência de extração quando esta é realizada com solventes diferentes da água, podendo levar, desta forma, à diminuição do rendimento do processo (NAGY; SIMÁNDI, 2008). Diante disso, a secagem é uma etapa de pré-tratamento importante no processo de extração de compostos bioativos, pois além de prolongar seu estado de conservação sem perder suas propriedades nutritivas, também pode contribuir na transferência de massa do soluto (MOUAHID *et al*. 2016). Martínez (2008) afirma que valores entre 3% e 10% de umidade geralmente não tem impacto negativo na transferência de massa dos compostos. Nessa faixa de umidade ocorre uma expansão da estrutura celular do material, facilitando a transferência de massa entre o solvente e as folhas.

4.2. RENDIMENTOS DOS EXTRATOS

Os rendimentos dos extratos totais da folha de cajazeira obtidos pelas técnicas de extração por turbólise (ET), extração assistida por ultrassom (EAU) e extração com água pressurizada (EAP) são apresentados na Tabela 5. Os solventes utilizados nas técnicas foram solução hidroetanólica (Hidro), etanol (EtOH) e água (H_2O). A EAP foi realizada em seis condições diferentes de temperatura e pressão, conforme apresentada na Tabela 3.

Tabela 5 – Rendimento dos extratos da folha de cajazeira obtidos por diferentes técnicas de extração.

Técnica de Extração	Solvente	RND (%)
ET_{Hidro}	EtOH/H_2O	$1,30 \pm 0,042^{a}$
ET_{EtOH}	EtOH	$0,25 \pm 0,000^{ef}$
ET_{H_2O}	H_2O	$0,76 \pm 0,000^{b}$
EAU_{Hidro}	EtOH/H_2O	$0,80 \pm 0,014^{b}$
EAU_{EtOH}	EtOH	$0,11 \pm 0,028^{f}$
EAU_{H_2O}	H_2O	$0,26 \pm 0,064^{ef}$
$EAP_{120/200}$	H_2O	$0,57 \pm 0,021^{cd}$
$EAP_{120/100}$	H_2O	$0,42 \pm 0,007^{de}$
$EAP_{80/100}$	H_2O	$0,45 \pm 0,049^{d}$
$EAP_{80/200}$	H_2O	$0,64 \pm 0,021^{bc}$
$EAP_{100/100}$	H_2O	$0,41 \pm 0,099^{de}$
$EAP_{100/200}$	H_2O	$0,45 \pm 0,028^{d}$

Fonte: O autor (2021).

A determinação do rendimento está relacionada à solubilidade da amostra em um determinado solvente (SATO *et al.* 2018). Diante disso, pode-se observar que o melhor rendimento foi obtido pela ET_{Hidro}, 1,30%, sendo este valor estatisticamente diferente das demais técnicas. Esse resultado era esperado devido a turbólise ser uma técnica de extração com elevada velocidade de agitação e moagem, em que ocorre uma redução do tamanho das partículas do material vegetal. Segundo Martins *et al.* (2017), na turbólise, as forças de cisalhamento rompem as células favorecendo a rápida dissolução das substâncias, o que leva ao quase esgotamento dos compostos presentes na planta.

Outro fator que pode ter contribuído para o maior rendimento da turbólise foi o solvente utilizado, a solução hidroetanólica. O etanol é uma molécula anfifílica, ou seja, pode extrair substâncias de caráter polar e apolar, possuindo a capacidade de extrair compostos bioativos com uma ampla faixa de polaridade. No caso da extração utilizando a solução hidroetanólica, ocorre uma alteração na polaridade do sistema devido à quantidade de água contida e, por conter tanto etanol quanto água, adequada para extrair compostos bioativos com forte polaridade, essa

técnica apresenta maior potencial extrativo. Esse comportamento também foi observado por Mazzutti *et al.* (2017) na obtenção de extratos biotivos de *Plantago major* e *Plantago lanceolata*, utilizando a EAU com diferentes solventes (hexano, metanol, etanol, solução hidroetanólica 70:30 (v/v). Eles encontraram maior rendimento para os extratos obtidos utilizando solvente hidroetanólico. Atribuíram isso a polaridade deste solvente, que ocasionou maior dissolução de compostos. Ahmed *et al.* (2021) na extração de compostos fenólicos das folhas de *Moringa oleifera* utilizando como solventes solução hidroetanólica 80:20 (v/v) e água. Verificaram, também, maior rendimento de compostos fenólicos para o extrato hidroetanólico, indicando que o efeito sinergético água-etanol contribui para o maior número de componentes solúveis.

Foi observado também que os rendimentos mais próximos ao valor da ET_{Hidro} foram encontrados na ET_{H_2O}, EAU_{Hidro} e $EAP_{80/200}$. Estes resultados não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) sendo, respectivamente, 0,76%, 0,80% e 0,64%. É possível perceber que o uso da solução hidroetanólica conduz à melhor eficiência do processo, independentemente da técnica utilizada, pois tanto na ET_{Hidro} quanto na EAU_{Hidro}, os valores obtidos foram superiores aos demais métodos. É importante observar que embora as técnicas de ET_{EtOH} e EAU_{EtOH} não aparentarem diferença significativa entre seus rendimentos, na ET_{H_2O} e EAU_{H_2O} apresentaram diferença significativa, indicando que o tipo de solvente também possui grande influência nos resultados obtidos.

Os menores rendimentos foram obtidos na ET_{EtOH}, EAU_{EtOH} e na EAU_{H_2O}, respectivamente, 0,25%, 0,11% e 0,26%, não houve diferença significativa entre esses valores. As técnicas EAU_{EtOH} e EAU_{H_2O} apresentaram a menor capacidade extrativa neste trabalho em termos de rendimento. Isso ocorreu, possivelmente, devido realização desta técnica não proporcionar uma adequada polaridade entre a matriz vegetal (folhas de cajazeira) e o extrato produzido, sendo a interação dos solventes inadequada para dissolução dos compostos, não contribuindo para o aumento de componentes solúveis. Resultados semelhantes foram obtidos por Machado *et al.* (2017) ao realizarem a recuperação de antocianinas de resíduos de *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* e *Eugenia brasiliensis* por EAU, extração com líquido pressurizado e Soxhlet. Eles observaram que a EAU obteve os menores rendimentos em comparação às outras duas técnicas.

A EAP na menor temperatura e maior pressão ($EAP_{80/200}$) obteve o melhor rendimento comparado aos demais ensaios da mesma técnica, apresentado-se também melhor que a ET_{EtOH}, EAU_{EtOH}, EAU_{H_2O} e estatisticamente igual ao ET_{H_2O}. A utilização da $EAP_{80/200}$ pode ser uma

opção de substituição aos processos extrativos a pressão atmosférica (ET e EAU) que utilizam apenas etanol ou água como solvente. De acordo com Essien, Young e Baroutian (2020), os extratos obtidos por técnicas a altas pressões possuem característica como alta qualidade, recuperação seletiva de bioativos, livre dos sólidos da planta e dos resíduos do solvente utilizado.

Em relação a EAP, pode-se observar, também, que os rendimentos, exceto da $EAP_{80/200}$, não apresentaram diferença significativa e variaram entre 0,41 e 0,57%. Valores semelhantes a esses foram obtidos por Ko, Kwon e Chung (2016) na extração com água subcrítica pressurizada de flavonóides da casca de tangerina satsuma (*Citrus unshiu* Markovich), em escala piloto. Eles utilizaram temperaturas entre 110 e 190 ºC, pressões entre 0,50 e 140 bar, tempo de extração de 5, 10 e 15 minutos, com a taxa de fluxo do sistema fixada em 1 L/min, sendo os rendimentos entre 0,4 e 0,6% de extrato seco. Susanti *et al*. (2015), na extração com água subcrítica pressurizada das folhas de *Physalis angulata*, obtiveram rendimentos de 0,29, 0,20 e 0,27% de extrato seco. A extração foi realizada em temperaturas entre 100 e 250 ºC, pressões de 100 e 200bar, por 15, 30 e 45 minutos de extração, com vazão não informada. Eles observaram que a elevação no tempo de extração ocasionou diminuição do rendimento, possivelmente, devido a exposição da matriz vegetal a temperaturas maiores que 100 ºC, levando ao colapso dos compostos alvo.

Foi observado que, na faixa de temperatura e pressão utilizada neste trabalho, a extração com água pressurizada como solvente não favoreceu a obtenção de altos rendimentos de extrato. Os fatores que podem ter contribuído para este resultado foram a polaridade do solvente e a influência da constante dielétrica, que cai drasticamente à medida que a água é aquecida isobaricamente, reduzindo a intensidade dos campos elétricos presentes no meio e, assim, minimizando o poder de extração (PETERSON *et al*. 2008). Como a água em altas condições de pressão e temperatura apresenta propriedades semelhantes à dos solventes orgânicos, e estes normalmente têm os valores da constante dielétrica menores que o da água, neste caso, o poder de dissolução da água para os compostos presentes nas folhas de cajazeira podem ter reduzido.

4.3. ANÁLISES QUÍMICAS DOS EXTRATOS

As técnicas de análises químicas utilizadas neste trabalho foram análise de compostos fenólicos totais (CFT) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.3.1. Compostos Fenólicos Totais (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) da folha de cajazeira obtido pelas técnicas de extração por turbólise (ET), assistida por ultrassom (EAU) e com água pressurizada (EAP) são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Compostos fenólicos totais dos extratos da folha de cajazeira obtidos por diferentes técnicas de extração.

Técnica de Extração	Solvente	CFT (mg EAG/g extrato)
ET_{Hidro}	EtOH/H_2O	$79,298 \pm 0,006^{a}$
ET_{EtOH}	EtOH	$19,999 \pm 0,041^{d}$
ET_{H_2O}	H_2O	$29,035 \pm 0,003^{c}$
EAU_{Hidro}	EtOH/H_2O	$50,421 \pm 0,038^{b}$
EAU_{EtOH}	EtOH	$7,712 \pm 0,005^{f}$
EAU_{H_2O}	H_2O	$12,196 \pm 0,008^{e}$
$EAP_{120/200}$	H_2O	$1,641 \pm 0,002^{gh}$
$EAP_{120/100}$	H_2O	$1,382 \pm 0,004^{h}$
$EAP_{80/100}$	H_2O	$1,371 \pm 0,001^{h}$
$EAP_{80/200}$	H_2O	$1,977 \pm 0,001^{g}$
$EAP_{100/100}$	H_2O	$1,536 \pm 0,001^{gh}$
$EAP_{100/200}$	H_2O	$1,372 \pm 0,001^{h}$

Fonte: O autor (2021).

Os valores de CFT obtidos neste trabalho foram entre 1,372 e 79,298 mg EAG/g extrato. Comparando a tabela do CFT (Tabela 6) com a tabela do rendimento (Tabela 5) nota-se que existe uma correlação entre esses dois parâmetros, percebe-se que, para as técnicas a pressão atmosférica (ET e EAU), quanto maior o valor do rendimento, maior é o teor de CFT obtido. O maior teor de CFT foi obtido na ET_{Hidro} (79,298 mg EAG/g extrato), sendo este estatisticamente diferente dos teores encontrados para as demais técnicas. Pode-se observar também através dos valores de CFT que a solução hidroetanólica foi o solvente que mais favoreceu a extração de compostos fenólicos, independentemente da técnica utilizada, sendo o teor de CFT para a EAU_{Hidro} de 50,421 mg EAG/g extrato, o segundo maior valor, diferindo também significativamente dos demais.

Desta forma, foi possível observar que a solução hidroetanólica favoreceu tanto o rendimendo de extrato seco como a extração dos compostos fenólicos presentes nas folhas de cajazeira. Resultados semelhantes foram observados por Dias *et al.* (2019) na extração de compostos da semente de umbu (*Spondias tuberosa*) utilizando a EAU 70:30 (v/v). Eles obtiveram maior valor de CFT na extração com o solvente hidroetanólico, sendo atribuído, de forma análoga ao rendimento do extrato hidroetanólico (item 4.2), a polaridade proporcionar

solubilização de uma maior faixa de componentes do material vegetal.

Para a EAP também foi observada a relação do aumento do teor de CFT com o aumento do rendimento do extrato seco, pórem os valores de CFT obtidos foram menores que os valores das demais técnicas. Não houve diferença significativa entre os valores obtidos nos ensaios da EAP. As $EAP_{120/200}$, $EAP_{80/200}$ e a $EAP_{100/100}$ apresentaram os maiores teores de CFT, porém estas variaram entre 1,37 e 1,97 mg EAG/g extrato, sendo uma variação significativamente desprezível. Os baixos teores ocorreram, possivelmente, devido a água, utilizada como único solvente, não ser indicada para a obtenção dos compostos fenólicos presentes nas folhas de cajazeira.

Na literatura não foi encontrado a utilização da EAP na extração de compostos das folhas de cajazeira, apenas a utilização de outras técnicas de extração com esse material vegetal e o uso da EAP em outros materiais vegetais diferentes e com outros líquidos pressurizados como solvente. Lachos-Peres *et al.* (2018) realizaram a extração com água subcrítica pressurizada para obter flavononas da casca de laranja, a temperatura utilizada foi de 110, 130 e 150 °C e a vazão de água de 10, 20 e 30 mL/min, com pressão constante em 100 bar. O maior rendimento de CFT totais foi obtido a 150 °C e 10 mL/min, sendo este 21,70 mg EAG/g amostra.

Cristofoli *et al*. (2019) utilizaram técnicas de extração a alta pressão e pressão atmosférica para avaliar o potencial antioxidante e antimicrobiano das folhas de cajazeira. As técnicas a pressão atmosférica foram Soxhlet e sonda ultrassônica (com os solventes hexano, etanol e solução hidroetanólica) e a técnica a alta usou CO_2 supercrítico como solvente (etanol como co-solvente). O teor de CFT encontrado foi entre 12 e 410 mg EAG/g extrato, sendo o maior valor obtido para a técnica de Soxhlet com etanol como solvente. Machado, Ferreira e Soares (2021a) realizaram a extração nas folhas de cajazeira utilizando a técnica de turbólise solução hidroetanólica como solvente, em diferentes proporções, com variação também da massa de material vegetal utilizada. O maior teor de CFT obtido foi de 204,8 mg EAG/g extrato, utilizando 15 g do material vegetal e solução hidroetanólica 80%. Eles observaram uma dependência entre o teor de polifenóis e a proporção de etanol, sendo as soluções hidroetanólicas com alto teor de álcool as que mais favoreceram a extração de compostos fenólicos nas folhas de cajazeira.

Todavia, precisa-se considerar que em uma mesma espécie vegetal as variações no teor de CFT dependem de inúmeros fatores abióticos. Akula e Ravishankar (2011) afirmaram em seu estudo sobre a síntese e acumulação de metabólitos secundários nos vegetais, que esta é

influenciada por diversos fatores abióticos, como temperatura, umidade, salinidade e alcalinidade do solo. Deve-se ter em mente que as características particulates de cada espécie pode influenciar fortemente nos teores que podem ser obtidos desta, devendo a comparação de resultados quantitativos ser feita com cautela.

Rufino *et al*. (2010) caracterizaram e quantificaram os principais compostos bioativos encontrados em frutas nativas do Brasil. O teor de fenóis foi classificado em três categorias: baixo (menor que 10 mg EAG/g), médio (entre 10 e 50 EAG/g) e alto (teor superior a 50 EAG/g). Segundo essa classificação, neste trabalho, a ET_{Hidro} foi a única técnica que extraiu alto teor de CFT. A EAU_{H2O}, EAU_{Hidro}, ET_{H2O} e a ET_{EtOH} proporcionaram uma extração mediana. Já a EAU_{EtOH} e os ensaios da EAP obtiveram baixos teores de CFT.

4.3.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Na Tabela 7 são apresentados os compostos identificados e suas respectivas frações nos extratos das folhas de cajazeira obtidas por CLAE-DAD para as técnicas de extração por turbólise (ET), assistida por ultrassom (EAU) e com água pressurizada (EAP).

Tabela 7 – Perfil de compostos fenólicos e suas frações nos extratos da folha de cajazeira obtidas por CLAE.

Técnica de extração	Ácido gálico (μg/ g extrato)	Ácido elágico (μg/ g extrato)	Ácido clorogênico (μg/ g extrato)	Rutina (μg/ g extrato)
ET_{Hidro}	$0{,}1100 \pm 0{,}000^{d}$	$0{,}4795 \pm 0{,}026^{b}$	$0{,}1255 \pm 0{,}006^{b}$	$0{,}3390 \pm 0{,}014^{a}$
ET_{EtOH}	$0{,}0745 \pm 0{,}001^{de}$	$0{,}1090 \pm 0{,}010^{ef}$	$0{,}0320 \pm 0{,}000^{e}$	$0{,}2625 \pm 0{,}002^{bc}$
ET_{H2O}	$0{,}2735 \pm 0{,}030^{b}$	$0{,}1410 \pm 0{,}014^{de}$	$0{,}1050 \pm 0{,}003^{c}$	$0{,}3245 \pm 0{,}016^{ab}$
EAU_{Hidro}	$0{,}0990 \pm 0{,}001^{de}$	$0{,}4090 \pm 0{,}013^{c}$	$0{,}0975 \pm 0{,}001^{c}$	$0{,}2445 \pm 0{,}008^{cd}$
EAU_{EtOH}	$0{,}0705 \pm 0{,}001^{de}$	$0{,}1340 \pm 0{,}003^{def}$	$0{,}1875 \pm 0{,}009^{a}$	$0{,}1935 \pm 0{,}002^{d}$
EAU_{H2O}	$0{,}2230 \pm 0{,}017^{c}$	$0{,}1770 \pm 0{,}020^{d}$	$0{,}0690 \pm 0{,}001^{d}$	$0{,}1830 \pm 0{,}052^{d}$
$EAP_{120/200}$	$0{,}7490 \pm 0{,}001^{a}$	$0{,}9560 \pm 0{,}03^{a}$	$0{,}0300 \pm 0{,}003^{e}$	$0{,}0000 \pm 0{,}000^{e}$
$EAP_{120/100}$	$0{,}0705 \pm 0{,}001^{de}$	$0{,}0925 \pm 0{,}001^{f}$	$0{,}0010 \pm 0{,}000^{f}$	$0{,}0340 \pm 0{,}000^{e}$
$EAP_{80/100}$	$0{,}0700 \pm 0{,}001^{de}$	$0{,}0940 \pm 0{,}003^{f}$	$0{,}0010 \pm 0{,}000^{f}$	$0{,}0355 \pm 0{,}001^{e}$
$EAP_{80/200}$	$0{,}0755 \pm 0{,}002^{de}$	$0{,}0940 \pm 0{,}001^{f}$	$0{,}0003 \pm 0{,}000^{f}$	$0{,}0475 \pm 0{,}001^{e}$
$EAP_{100/100}$	$0{,}0695 \pm 0{,}001^{e}$	$0{,}0930 \pm 0{,}001^{f}$	$0{,}0010 \pm 0{,}000^{f}$	$0{,}0385 \pm 0{,}002^{e}$
$EAP_{100/200}$	$0{,}0745 \pm 0{,}001^{de}$	$0{,}0995 \pm 0{,}001^{ef}$	$0{,}0020 \pm 0{,}000^{f}$	$0{,}0435 \pm 0{,}001^{e}$

Fonte: O autor (2021).

A partir da Tabela 7 foi possível observar que o extrato da folha de cajazeira rico em ácidos fenólicos (gálico, elágico e clorogênico), além de conter rutina, um flavonoide benéfico aos seres vivos aos seres vivos. Entretando, como verificado também por Omoregie e Oikeh (2015), a maioria do conteúdo fenólico total dos extratos de cajazeira é de origem não

flavonoide. Esses resultados concordam com os de Machado, Ferreira e Soares (2021b), que também detectaram a presença desses fitoquímicos ao realizarem a determinação do perfil fitoquímico dos extratos das folhas de cajazeira. Estas substâncias presentes nos extratos de cajazeira também foram identificadas por Aromolaran e Badejo (2014) na extração por maceração utilizando metanol, etanol, acetona e água como solventes; Cabral *et al*. (2016) na obtenção de extratos por maceração com solução hidroetanólica 70:30 (v/v); Dos Santos Sampaio *et al*. (2018) na extração por maceração com 75% de etanol e Araruna *et al*. (2021) que utilizaram na extração banho ultrassônico com solução hidroetanólica 70:30. Eles descreveram essas substâncias como responsáveis por bioatividades, tais como atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiviral, efeito sedativo e ansiolíticos.

A técnica mais efetiva na extração dos ácidos gálico e elágico foi a $EAP_{120/200}$, respectivamente, 0,7490 e 0,9560 μg/g extrato, e deferiu estatisticamente dos demais métodos. Essa fração de ácido gálico encontra-se na faixa obtida por Machados, Ferreira e Soares (2021a) na extração por turbólise das folhas de cajazeira. Eles obtiveram teores de ácido elágico entre 0,8584 e 0,4011 μg/g extrato. A $EAP_{120/200}$, condição de maior pressão e temperatura, favoreceu a extração desses dois ácidos de forma simultânea. Esse fato foi atribuído por Li *et al*. (2016) a características que esses ácidos têm em comum, pois ambos são substâncias solúveis em água. Além disso, segundo Corazza *et al*. (2018) a alteração que a constante dielétrica da água sofre nessa condição pode ter contribuído para o arraste desses dois compostos, pois polaridade do meio aquoso foi reduzida com o aumento da pressão, aumentando a solubilidade destes compostos.

Para o ácido clorogênico, o maior teor obtido foi da EAU_{EtOH}, 0,1875 μg/g extrato, sendo significativamente diferente dos demais. De acordo com Wang *et al*. (2019), esse composto é um éster dos ácidos cafeico e quínico com alto peso molecular, que possui menor afinidade por solventes com alta polaridade, como a água, e melhor solubilidade em etanol. Além disso, a técnica de EAU, possivelmente, obteve maior teor deste ácido devido ao efeito não térmico das cavitações acústicas do banho ultrassônico no solvente, que favoreceu a formação de canais microscópicos na estrutura do tecido da folha facilitando a extração (ALVES FILHO *et al*. 2020).

Frações maiores de rutina foram obtidas na ET_{Hidro}, ET_{H2O} e ET_{EtOH}, respectivamente, 0,3390; 0,3245 e 0,2625 μg/g extrato, sendo estatisticamente próximas, como pode ser observado na Tabela 7. Portanto, neste trabalho, a turbólise foi a técnica que mais favoreceu a extração dessa substância. Esse comportamento também foi observado em relação ao

rendimento dos extratos totais (item 4.2), em que a ET obteve também os maiores percentuais, sendo isso atribuído as forças de cisalhamento presentes nesta técnica, que favorecerem a rápida dissolução desse composto no solvente.

Como é possível visualizar na Tabela 7, existiram algumas técnicas que favoreceram a extração de compostos específicos. Manousi, Sarakatsianos e Samanidou (2019) em seu artigo sobre compostos bioativos, afirmaram que não existe método único considerado padrão para a extração de compostos bioativos de plantas, pois a eficácia das técnicas depende de parâmetros como a quantidade de matéria-prima utilizada, a disponibilidade natural da matriz vegetal, o tipo da estrutura química dos compostos bioativos, o solvente utilizado e a disponibilidade de recursos laboratoriais para realização da pesquisa.

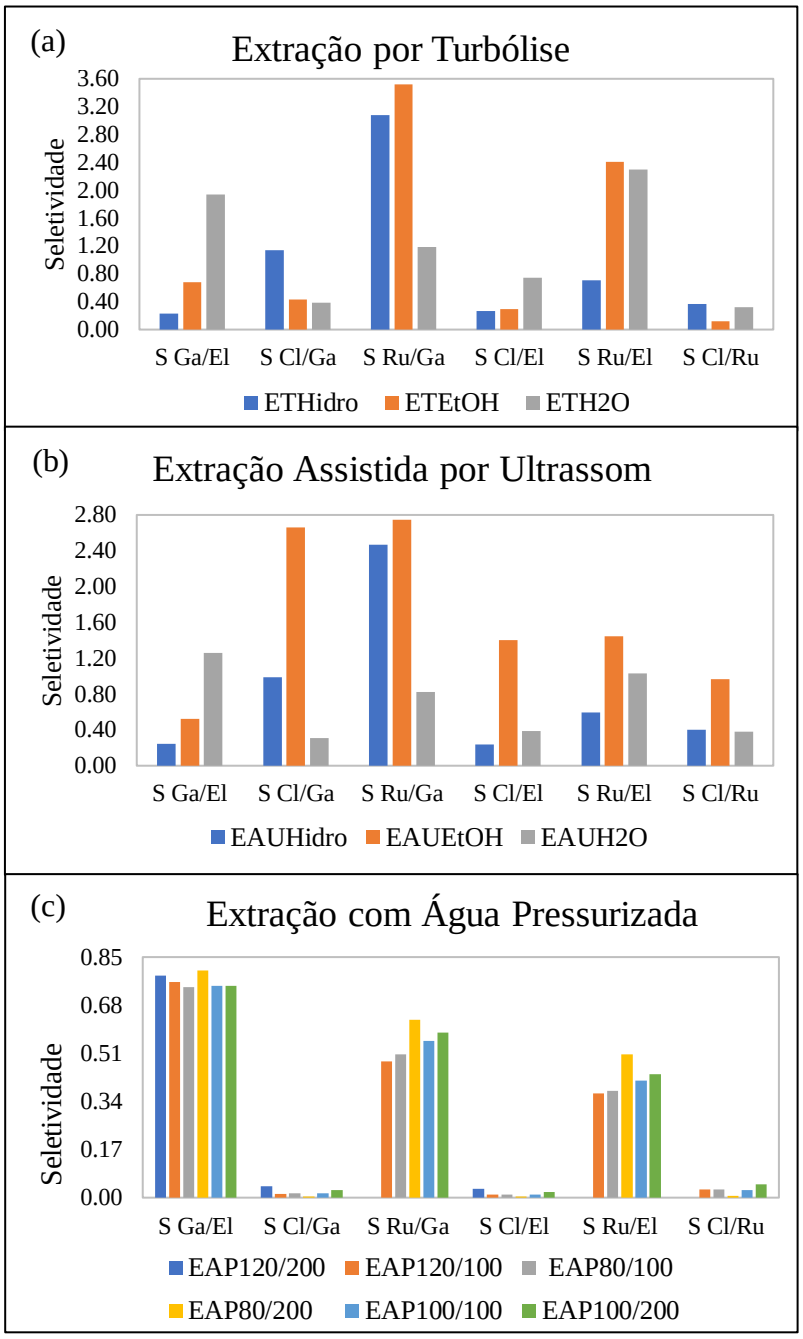
É importante ressaltar que os compostos identificados pelas diferentes técnicas de extração, além de possuírem importantes ações bioativas, destacam-se também pelo seu alto valor agregado. De acordo com uma pesquisa feita no *site* de uma empresa alemã de produtos químicos, 50 mg de cada um dos compostos identificados (ácidos gálico, elágico e clorogênico, além da rutina) atingem variações de preços de venda que variam de dezenas a milhares de reais (MERCK, 2021).

4.4. DETERMINAÇÃO DA SELETIVIDADE DOS COMPOSTOS

Na Figura 10 são apresentados os gráficos da seletividade dos compostos extraídos das folhas de cajazeira pelas técnicas de extração por turbólise (ET), assistida por ultrassom (EAU) e com água pressurizada (EAP), sendo os solventes utilizados solução hidroetanólica 70:30 (v/v) (Hidro), água (H_2O) e etanol (EtOH).

Em relação à seletividade entre os componentes extraídos pelo método da turbólise (ET) pode-se perceber através do gráfico da Figura 10-a que o processo é mais seletivo para a rutina. Tanto na extração com a solução hidroetanólica (ET_{Hidro}) quanto com o etanol (ET_{EtOH}), a seletividade da rutina em relação ao ácido gálico (S Ru/Ga) foi superior aos demais compostos detectados. Semelhantemente, ao analisarmos a rutina em relação ao ácido elágico (S Ru/El), mostrou-se também com maior seletividade, neste caso, o extrato aquoso proporcionou uma maior seletividade desse composto quando comparado a mistura hidroetanólica. Porém, em ambos os casos, observa-se que as extrações com etanol alcançaram maior seletividade para rutina.

Figura 10 - Seletividade dos compostos extraídos pelas técnicas de extração (a) por turbólise, (b) assistida por ultrassom e (c) com água pressurizada.



Fonte: O autor (2021).

A maior seletividade para a rutina também é observada quando comparada com o ácido clorogênico (S Cl/Ru), pois os valores obtidos nas extrações com os três solventes foram baixos, entre 0,12 e 0,37. Obteve-se baixos valores na seletividade Cl/Ru. Desta forma, a seletividade da rutina é superior aos três ácidos fenólicos detectados. Pode-se observar, também, que resultados próximos ao da seletividade da rutina foram obtidos para a seletividade do ácido gálico em relação ao ácido elágico (S Ga/El), quando este é extraído utilizando apenas a água como solvente.

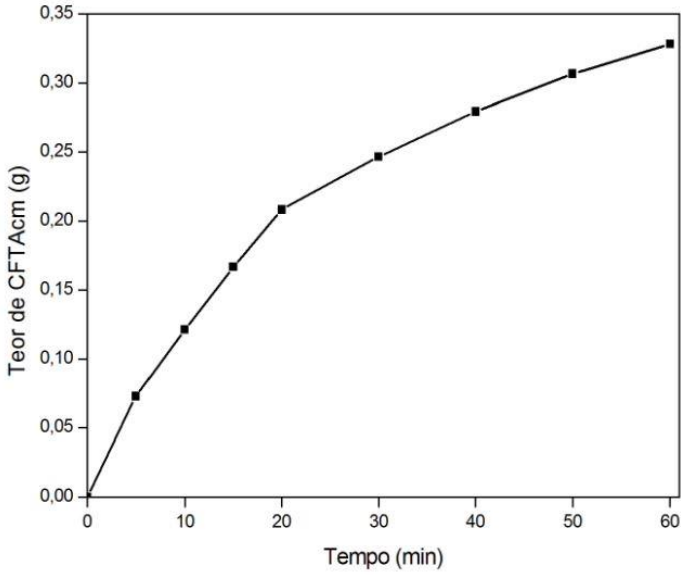
Percebe-se através do gráfico da seletividade para a extração assistida por ultrassom (EAU), apresentado na Figura 10-b, que o processo é mais seletivo para ácido clorogênico e rutina, isso pode ser observado também na Tabela 7, em que os teores desses dois compostos para a EAU_{EtOH} são bem próximos.

A seletividade da extração com água pressurizada (Figura 10-c) é para o ácido gálico, independentemente da condição de pressão e temperatura, atingindo o maior valor na condição de 80 ºC e 200 bar. A EAP possui maior capacidade de extração para o ácido gálico em comparação aos ácidos elágico e clorogênico, pois a seletividade Ga/El obtida foi alta (0,74 a 0,80) e a seletividade Cl/Ga foi muito baixa (0,004 a 0,04). A rutina possui a segunda maior seletividade desse método, como pode ser observado através das seletividades Ru/Ga, Ru/El e Cl/Ru, independentemente da condição estudada, sendo na condição de 80 °C e 200 bar os maiores valores obtidos.

4.5. AVALIAÇÃO CINÉTICA E MODELAGEM MATEMÁTICA DA EAP

A avaliação cinética da EAP foi realizada na condição que obteve as maiores concentrações de compostos fenólicos totais (CFT), sendo esta a condição 80 °C e 200 bar ($EAP_{80/200}$). A Figura 11 apresenta a curva cinética do teor de CFT acumulado (CFT_{Acm}) em função do tempo para a EAP das folhas de cajazeira.

Figura 11- Curva cinética do rendimento de extração dos CFT acumulado em função do tempo para a EAP de folhas de cajazeira. Condições: 80 ºC, 200bar, vazão de 3 mL/min e 60 minutos de extração.



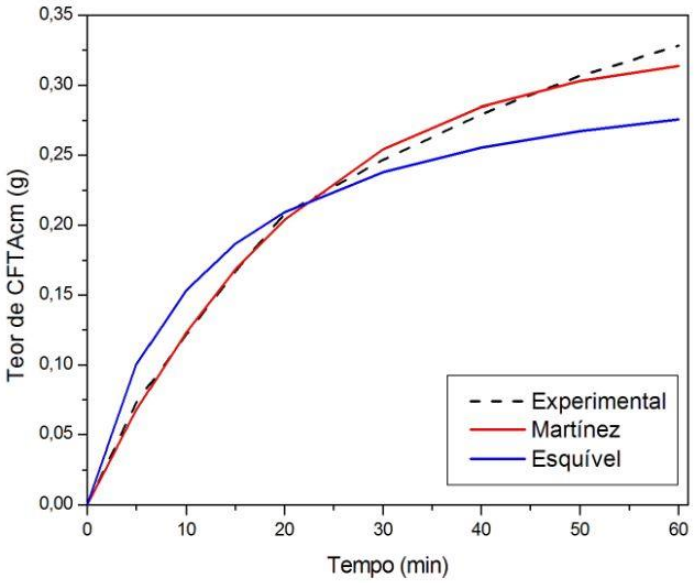
Fonte: O autor (2021).

Através do gráfico da Figura 11 foi possível observar duas etapas de um processo de extração, como mencionado no item 2.5. A etapa CER foi observada durante os primeiros 20 minutos de extração, obtendo o teor de CFT_{Acm} 0,208 g, sendo equivalente a 63,46 % do total extraído. Pereira e Meireles (2010) afirmam que 50 a 90% do soluto é geralmente obtido na nessa etapa, com exceção as substâncias que são insolúveis em água ou quando o mesmo está intrínseco em estruturas celulares profundas. A etapa FER ocorreu aproximadamente entre 20 e 60 minutos de extração, sendo obtido 0,119 g de CFT_{Acm}, equivalente a 36,54 % do total extraído. Prado *et al*. (2013) relataram que nessa etapa a extração começa a ficar mais lenta e, portanto, pode ser chamada também de pseudo-estável. A etapa DIF não foi observada no tempo de extração utilizado neste trabalho.

Observa-se que quanto maior o tempo de extração, menor é o teor de CFT. Esse comportamento era esperado, tendo em vista que, com o aumento do tempo de extração, os compostos presentes na folha vão se exaurindo. Segundo Cvetanović *et al*. (2015), tempos prolongados de extração pode também provocar a degradação dos componentes termolábeis, levando assim a queda no rendimento dos compostos. Duba *et al.* (2015) também observaram esse decréscimo no teor de CFT na EAP nas cascas de uva, verificando que o tempo de extração como um fator de influência na transferência de massa da extração sólido-líquido. Esses resultados indicam a possibilidade da obtenção de maiores rendimentos de CFT em tempos de extração mais curtos, gerando um menor gasto energético.

Na realização da modelagem matemática da curva de extração utilizando o programa *Mass Transfer* foi calculado, inicialmente, o teor inicial do soluto correspondente em 10 g do material vegetal e a massa inerte dos compostos. Esses valores foram calculados considerando o teor de CFT_{Acm} obtido no final do processo (0,328 g), que foi equivalente à quantidade máxima de compostos presentes no material vegetal obtido na $EAP_{80/200}$. A Figura 12 apresenta a comparação entre a curva experimental dos ensaios cinéticos e as curvas obtidas pelo ajuste aos modelos de Martínez e Esquível. Os parâmetros obtidos para os modelos de Martínez e Esquível encontram-se na Tabela 8.

Figura 12 – Curva experimental de extração e curvas ajustadas aos modelos de Martínez e Esquível para EAP das folhas de cajazeira. Condições: 80 ºC, 200 bar, vazão de 3 mL/min e 60 minutos de extração.



Fonte: O autor (2021).

Tabela 8 - Parâmetros ajustáveis dos modelos de Martínez e Esquível.

Modelo	Parâmetro	Valor
Martínez	bi (min^{-1})	0,055
	t_m (min)	-28,330
	EQM	$4{,}136x10^{-5}$
Esquível	b (min^{-1})	11,390
	EQM	$7{,}882x10^{-4}$

Fonte: O autor (2021).

Como pode-se observar na Figura 12, ambos os modelos foram capazes de representar o comportamento do processo de extração deste trabalho. Pode-se perceber pela curva apresentada na Figura 12 que o modelo de Esquível se ajustou bem aos dados experimentais deste trabalho, o valor do erro quadrático médio (EQM) obtido não foi alto, sendo $7{,}88x10^{-4}$. Porém, o modelo de Martínez apresentou melhor ajuste aos dados, sendo obtido para ele menor EQM (Tabela 8).

O modelo de Martínez considera que a transferência de massa ocorre na fase sólida e na fluida, no interior do leito de extração, enquanto o modelo de Esquível é um modelo empírico análogo à curva de crescimento microbiano (equação de Monod), como colocado nos itens 2.5.1 e 2.5.2. Nascimento *et al.* (2016) realizaram a cinética de extração do óleo de polpa de macaúba (*Acrocomia intumescens*) com CO_2 supercrítico e investigaram o ajuste dos dados obtidos usando os modelos propostos por Crank, Esquível, Martínez e Tan e Liou. Eles constantaram

que os melhores ajustes do processo foram alcançados com os modelos de Martínez e Esquível.

O modelo de Martínez possui dois parâmetros ajustáveis, t_m e *bi*, sendo esse um fator que pode ter contribuído também para o melhor ajuste, pois o modelo de Esquível apresenta apenas um, *b*. O valor do parâmetro *b* da equação de Esquível (Equação 7) obtido para este trabalho foi 11,390. Ele representa os efeitos termodinâmicos e de transferência de massa, porém, não é possível descrever com exatidão a influência desses fenômenos no processo. Seu valor pode ser ajustado com a variação de temperatura, pressão e vazão de solvente (QUISPE-CONDORI *et al*. 2005; ESQUÍVEL; BERNARDO-GIL; KING, 1999).

O termo t_m corresponde ao instante em que a taxa de extração é máxima. Neste trabalho seu valor é negativo, indicando que o teor de CFT é decrescente, ou seja, a taxa máxima é atingida no início da extração. Já o parâmetro *bi* é próprio de cada sistema de extração, não possuindo significado físico (MARTÍNEZ, 2002).

Dias (2017) determinou a modelagem matemática da extração de compostos bioativos da semente de umbu (*Spondias tuberosa*) utilizando CO_2 supercrítico e comparou os modelos de Crank, Esquível, Martínez e Sovová. Verificou que modelo de Martínez também apresentou o menor EQM, $4{,}136 \times 10^{-5}$, ajustando-se melhor aos dados. Maia *et al.* (2018) determinaram a curva cinética dos extratos bioativos de mangaba (*Hancornia speciosa*), com CO_2 supercrítico como solvente, utilizando os modelos de Crank, Martínez, Esquível, Gaspar e Sovová. Eles observaram que o modelo de Martínez apresentou o melhor ajuste em comparação com os demais modelos aplicados.

4.6. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS DO RESÍDUO SÓLIDO REPROCESSADO DA EAP

Os valores de CFT dos resíduos sólidos (RS) reprocessados da $EAP_{80/200}$ e da $EAP_{80/100}$, ensaios com maior e menor teor de CFT da técnica, são apresentados na Tabela 9, juntamente com as outras amostras. Os RS foram submetidos também a tratamentos com ultrassom (RS EAU) e a turbólise (RS ET), utilizando a solução hidroetanólica, solvente visto como o mais eficiente desses métodos. Esse reprocessamento teve como finalidade investigar a existência de quantidades significativas dos compostos ainda presentes nesse material vegetal, podendo os resíduos da extração serem utilizados como matéria-prima vegetal para nova extração.

Tabela 9 – Resíduos sólidos reprocessados da EAP dos extratos das folhas de cajazeira.

Resíduos da EAP	**CFT** (mg EAG/g extrato)
$EAP_{80/200}$	$1,977 \pm 0,001^{b}$
$EAP_{80/100}$	$1,371 \pm 0,001^{e}$
$RS_{80/200}$ ET	$2,047 \pm 0,006^{a}$
$RS_{80/200}$ EAU	$2,003 \pm 0,006^{b}$
$RS_{80/100}$ ET	$1,700 \pm 0,017^{c}$
$RS_{80/100}$ EAU	$1,663 \pm 0,015^{d}$

Fonte: O autor (2021).

A partir dos resultados expressos na Tabela 9, observou-se que o maior valor encontrado de CFT foi para $RS_{80/200}$ ET, significativamente diferente dos demais resíduos. O valor obtido no reprocessamento foi maior que o obtido na $EAP_{80/200}$, indicando que a ET_{Hidro} é uma técnica com maior capacidade extrativa para este material vegetal. Desta forma, percebeu-se que ainda havia neste resíduo compostos fenólicos que não foram efetivamente extraídos com água subcrítica, e que a utilização do solvente hidroetanólico na ET favoreceu a extração destes compostos. Esse resultado pode indicar que a polaridade da solução hidroetanólica possui considerável influência na extração de CFT das folhas de cajazeira, sendo este o solvente visto como mais apropriado.

Para $RS_{80/200}$EAU obteve-se um teor de CFT de 2,003 mg EAG/g extrato, sendo este valor estatisticamente igual ao obtido da $EAP_{80/200}$, indicando que a EAU_{Hidro} é capaz de fornecer uma extração adicional dos compostos, pórem não é eficiente como a ET_{Hidro}. A mesma relação foi percebida para o resíduo obtido da $EAP_{80/100}$, foi verificado que o reprocessamento desse resíduo também apresentou um maior teor de CFT para a ET_{Hidro}, comparando com o teor de compostos obtido $EAP_{80/100}$. Já por meio da EAU_{Hidro} desse resíduo obteve-se um pequeno aumento em comparação a $EAP_{80/100}$, sendo estatisticamente diferentes.

Resultados semelhantes foram obtidos por Cristofoli *et al.* (2019), que realizaram o reprocessamento do RS por meio da EAU com sonda ultrassônica, utilizando o etanol como solvente, sendo encontrado 381,9 mg EAG/g extrato. O RS foi oriundo da extração supercrítica com CO_2 das folhas de cajazeira, a 40 ºC e 200 bar, usando etanol e água como co-solventes, em diferentes concentrações. Os autores obtiveram grande teor de CFT do resíduo reprocessado, indicando que os resíduos de extrações com fluidos pressurizadas das folhas de cajazeira ainda possuem compostos a serem extraídos.

Os resultados obtidos demonstram que a EAP, nas condições estudadas nesse trabalho,

não foi eficiente para extrair os compostos contidos nas folhas de cajazeira. Dessa forma, o reprocessamento do RS pode ser interessante para o setor produtivo, pois podem agregar maior valor econômico e contribuir para um processo ambientalmente correto, justamente o esperado no âmbito das chamadas biorrefinarias (CORRÊA; GALLO, 2020, ZHANG *et al*. 2020).

5. CONCLUSÕES

Através das caracterizações realizadas nas folhas de cajazeira pode-se verificar teor de umidade de 10,56 % e diâmetro médio de partículas de 255 μm. Em relação às técnicas de extração, foi observado que a polaridade do solvente tem influência sobre o potencial extrativo. A extração por turbólise utilizando a mistura hidroetanólica foi a técnica que obteve o maior rendimento e teor de compostos fenólicos totais dos extratos. A extração com água pressurizada apresentou valores menores que os da turbólise, pórem os resultados obtidos neste trabalho podem contribuir para o aprimoramento dessa técnica.

Na análise cromatográfica foi possível identificar e quantificar compostos bioativos como o ácido gálico, elágico, clorogênico e a rutina, relevantes para a saúde e qualidade de vida de seres vivos, pois podem apresentar atividade antinflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiviral, ansiolítica, dentre outras. Por meio da seletividade pode-se detectar os compostos que foram melhor extraídos para cada técnica e solvente utilizado, sendo a ET_{EtOH} mais seletiva para a rutina. A EAU_{EtOH} foi uma técnica mais seletiva para ácido clorogênico e rutina, e a EAP apresenta a seletividade para o ácido gálico, independentemente da condição de pressão e temperatura, sendo o maior valor na condição de 80 ºC e 200 bar.

O estudo cinético da extração com água pressurizada das folhas de cajazeira indicou que os maiores conteúdos de compostos fenólicos são extraídos nos primeiros 20 minutos de extração. Ambos os modelos utilizados se ajustaram bem aos dados. Contudo, o modelo de Martínez apresentou o melhor ajuste aos dados por fornecer o menor erro, podendo ser utilizado para prever curvas de extração para o mesmo sistema soluto-solvente utilizado neste trabalho.

Em relação aos resíduos sólidos oriundos da extração com água pressurizada, foi verificado que o método não foi eficiente para extrair todos os compostos contidos nas folhas de cajazeira. Foram obtidos no reprocessamento teores entre 2,047 e 1,663 mg EAG/g extrato. Também foi observada que a utilização do solvente hidroetanólico nas técnicas de ET e EUA favoreceu a extração destes compostos, sendo uma opção eficiente para o reprocessamento dos resíduos e contribuindo para um processo com menor impacto ambiental.

As folhas de cajazeira se apresentaram como um material vegetal com potencial para o desenvolvimento de estudos, sobretudo como fitoterápicos, visando produtos para o tratamento e/ou prevenção de doenças. Apontando também para a necessidade de serem realizadas investigações utilizando outras partes da planta, como a semente, a raiz e o caule.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros têm-se:

Realizar extrações utilizando outros fluidos pressurizados (solução hidroetanólica, CO_2, etanol e metanol);

Avaliar a atividade microbiana dos extratos das folhas de cajazeira pelo método de difusão em ágar;

Aplicar os extratos das folhas de cajazeira em um produto (farmacêutico e/ou alimentício) a fim de verificar a ação dos compostos bioativos presentes;

Estudar a viabilidade econômica dos processos, a fim de ampliar a escala das extrações

REFERÊNCIAS

ABDELWAHAB, S. I. Protective mechanism of gallic acid and its novel derivative against ethanol-induced gastric ulcerogenesis: Involvement of immunomodulation markers, Hsp70 and Bcl-2-associated X protein. **International Immunopharmacology**, v. 16, n. 2, p. 296-305, 2013.

ACCIOLY, M. P.; BEVILAQUA, C. M. L.; RONDON, F. C.; DE MORAIS, S. M.; MACHADO, L. K.; ALMEIDA, C. A.; CARDOSO, R. P. Leishmanicidal activity in vitro of Musa paradisiaca L. and Spondias mombin L. fractions. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 1-2, p. 79-84, 2012.

AGHAMOHAMMADI, A.; MOSLEMI, D.; AKBARI, J.; GHASEMI, A.; AZADBAKHT, M.; ASGHARPOUR, A.; HOSSEINIMEHR, S. J. The effectiveness of Zataria extract mouthwash for the management of radiation-induced oral mucositis in patients: a randomized placebo-controlled double-blind study. **Clinical Oral Investigations**, v. 22, n. 6, p. 2263-2272, 2018.

AHMED, K. S.; JAHAN, I. A.; JAHAN, F.; HOSSAIN, H. Antioxidant activities and simultaneous HPLC-DAD profiling of polyphenolic compounds from Moringa oleifera Lam. Leaves grown in Bangladesh. **Food Research**, v. 5, n. 1, p. 401-408, 2021.

AKGÜL, G.; MADENÓGLU, T. G.; CENGIZ, N. U.; GÖKKAYA, D.; SÁGLAM, M.; YÜKSEL, M.; Hydrothermal gasification of *Rosa damascena* residues: Gaseous and aqueous yields. **Journal of Supercritical Fluids.** V. 85, p. 135-142, 2014.

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.

ALELUIA, C. M; PROCÓPIO, C. V.; OLIVEIRA, M. T. G.; FURTADO, P. G. S.; GIOVANNINI, J. F. G.; DE MENDONÇA, S. M. S. Fitoterápicos na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 27, n. 2, p. 126-134, 2017.

ALVES FILHO, E. G.; SOUSA, V. M.; RODRIGUES, S.; DE BRITO, E. S.; FERNANDES, F. A. Green ultrasound-assisted extraction of chlorogenic acids from sweet potato peels and sonochemical hydrolysis of caffeoylquinic acids derivatives. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 63, p. 104911, 2020.

ANANINGSIH, V.K.; SHARMA, A.; ZHOU, W. Green tea catechins during food processing and storage: A review on stability and detection**. Food Research International**, v.50, pp. 469-479, 2013.

ANDRADE, B. S.; MATIAS, R.; CORRÊA, B. O.; OLIVEIRA, A. K. M.; GUIDOLIN, D. G. F.; ROEL, A. R. Phytochemistry, antioxidant potential and antifungal of Byrsonima crassifolia on soil phytopathogen control. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 1, p. 140-146, 2018.

ARARUNA, M. E.; SILVA, P.; ALMEIDA, M.; RÊGO, R.; DANTAS, R.; ALBUQUERQUE, H.; SANTOS. Tablet of Spondias mombin L. Developed from Nebulized

Extract Prevents Gastric Ulcers in Mice via Cytoprotective and Antisecretory Effects. **Molecules**, v. 26, n. 6, p. 1581, 2021.

ARAUJO, A. S. A.; CARAMIT, R. P.; OLIVEIRA, L. C. S.; FERREIRA, V. S. Electroanalytical method for determining pyrogallol in biodiesel in the presence of a surfactant. **Electroanalysis**, v. 27, n. 5, p. 1152-1158, 2015.

AROMOLARAN, O.; BADEJO, O. K. Efficacy of fresh leaf extracts of Spondias mombin against some clinical bacterial isolates from typhoid patients. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 6, p. 442-446, 2014.

ASUQUO, O. R.; EKANEM, T. B.; UDOH, P. B.; ELUWA, M. A. Histomorphological study of the anti-fertility effect of Spondias mombin L. in adult male rats. **IOSR J Pharm Biol Sci**, v. 3, n. 2, p. 29-34, 2012.

AYOKA, A. O.; AKOMOLAFE, R. O.; AKINSOMISOYE, O. S.; UKPONMWAN, O. E. Medicinal and economic value of Spondias mombin. **African Journal of Biomedical Research**, v. 11, n. 2, 2008.

AYOKA, A. O.; AKOMOLAFE, R. O.; IWALEWA, E. O.; AKANMU, M. A.; UKPONMWAN, O. E. Sedative, antiepileptic and antipsychotic effects of Spondias mombin L. (Anacardiaceae) in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 166-175, 2006.

AYOKA, A. O.; AKOMOLAFE, R. O.; IWALEWA, E. O.; UKPONMWAN, O. EL. Studies on the anxiolytic effect of Spondias mombin L. (Anacardiaceae) extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 2, n. 2, p. 153–165, 2005.

BARBA, F. J.; ZHU, Z. KOUBAA, M. SANT'ANA, A. S.; ORLIEN, V. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and byproducts: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 49, p. 96-109, 2016.

BARBA, F.J.; PUTNIK, D.B, KOBACEVIC, M.M. POOJARY, S. ROOHUNEJAD, J.M.; LORENZO, KOUBAA, M. Impact of conventional and non-conventional processing on prickly pear (Opuntia spp.) and their derived products: From preservation of beverages to valorization of by-products**. Trends in Food Science and Technology**, v. 67, p. 260- 270, 2017.

BATISTA, A. L. A.; LINS, R. D. A. U.; DE SOUZA COELHO, R.; DO NASCIMENTO BARBOSA, D.; BELÉM, N. M., & Celestino, F. J. A. Clinical efficacy analysis of the mouth rinsing with pomegranate and chamomile plant extracts in the gingival bleeding reduction. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 20, n. 1, p. 93-98, 2014.

BELWAL, T.; EZZAT, S. M.; RASTRELLI, L.; BHATT, I. D.; DAGLIA, M.; BALDI, A.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 82-102, 2018.

BENELLI, Patrícia. **Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração**.

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

BEZERRA, I. C.; DE RAMOS, R. T.; FERREIRA, M. R.; SOARES, L. A. Chromatographic profiles of extractives from leaves of Eugenia uniflora. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 1, p. 92-101, 2018.

BISWAS, A. K.; BEURA, C. K.; YADAV, A. S.; PANDEY, N. K.; MENDIRATTA, S. K.; KATARIA, J. M. Influence of novel bioactive compounds from selected fruit by-products and plant materials on the quality and storability of microwave-assisted cooked poultry meat wafer during ambient temperature storage. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 727-733, 2015.

BRITO, S. A.; DE ALMEIDA, C. L. F.; DE SANTANA, T. I.; DA SILVA OLIVEIRA, A. R.; DO NASCIMENTO FIGUEIREDO, J. C. B.; SOUZA, I. T.; WANDERLEY, A. G. Antiulcer Activity and Potential Mechanism of Action of the Leaves of Spondias mombin L. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1-20, 2018.

BRUNNER, G. Near critical and supercritical water. Part I. Hydrolytic and hydrothermal processes. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 373-381, 2009.

CABRAL, B.; SIQUEIRA, E. M.; BITENCOURT, M. A.; LIMA, M. C., LIMA, A. K.; ORTMANN, C. F.; REGINATTO, F. H. Phytochemical study and anti-inflammatory and antioxidant potential of Spondias mombin L. leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 3, p. 304-311, 2016.

CARDOZO-FILHO, L.; FERRUA, F. Q.; MEIRELES, M. A. A. Estudo do processo da extraçãosupercrítica de óleos essenciais de produtos naturais. **Food Science and Technology**, v. 17, n. 4, p. 449-455, 1997.

CARRASCO-SANDOVAL, J.; REBOLLEDO, P.; PETERSSEN-FONSECA, D.; FISCHER, S.; WILCKENS, R.; ARANDA, M.; HENRÍQUEZ-AEDO, K. Um método rápido e seletivo para determinação de compostos fenólicos em sementes de quinoa (*Chenopodium quinoa Will*) por meio de extração assistida por ultrassom e cromatografia líquida de alta eficiência. **Artigos Químicos**, v. 75, n. 1, p. 431-438, 2021.

CARVALHO, M.T.; BERGAMASCO, R; GOMES, R.G. Métodos de extração de compostos bioativos: Aproveitamento de subprodutos na agroindústria. **Revista Uningá Review**, v. 33, n. 1, p. 66-84, 2018.

CAVALCANTI CLEMENTINO, E. L.; SILVA SANTOS, J.; DE CASTRO FELISMINO, D.; DANTAS DE MEDEIROS, A. C., SILVA, H.; PEREIRA CHAVES, T. Evaluación de la actividad biológica de los extractos de Commiphora leptophloeos (Mart.) JB Gillet. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 21, n. 4, p. 1-10, 2016.

DIAS, A. L. B.; SERGIO, C. S. A.; SANTOS, P.; BARBERO, G. F.; REZENDE, C. A.; MARTÍNEZ, J. Effect of ultrasound on the supercritical CO2 extraction of bioactive compounds from dedo de moça pepper (Capsicum baccatum L. var. pendulum). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 284-294, 2016.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANOTIXIER, 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.

COLALTO, C. What phytotherapy needs: Evidence-based guidelines for better clinical practice. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 3, p. 413-425, 2018.

CORAZZA, G. O.; BILIBIO, D.; ZANELLA, O.; NUNES, A. L.; BENDER, J. P.; CARNIEL, N.; PRIAMO, W. L. Pressurized liquid extraction of polyphenols from Goldenberry: Influence on antioxidant activity and chemical composition. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 63-68, 2018.

CORRÊA, A. G.; GALLO, J. M. R. **Biomassa: estrutura, propriedades e aplicações**. São Carlos: EdUFSCar, 2020. 368p.

CORREIA, J.; MICHIELIN, E. M. Z.; FERREIRA, S. R. S. **Estudo de modelos de transferência de massa para processos de extração supercrítica**. Relatório de iniciação científica – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007. 31 p.

CORTHOUT, J.; PIETERS, L. A.; CLAEYS, M.; BERGHE, D. V.; VLIETINCK, A. J. Antiviral ellagitannins from Spondias mombin. **Phytochemistry**, v. 30, n. 4, p. 1129-1130, 1991.

CORTHOUT, J.; PIETERS, L.; CLAEYS, M.; BERGHE, D. V.; VLIETINCK, A. J. Antiviral caffeoyl esters from Spondias mombin. **Phytochemistry**, v. 31, n. 6, p. 1979-1981, 1992.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A. **Alternative solvents for natural products extraction**. Berlin: Springer, 2014. 269p.

CRISTOFOLI, N. L.; LIMA, C. A. R.; VIEIRA, M. M. C.; ANDRADE, K. S.; FERREIRA, S. R. Antioxidant and antimicrobial potential of cajazeira leaves (Spondias mombin) extracts. **Separation Science and Technology**, v. 54, n. 4, p. 580-590, 2019.

CVETANOVIĆ, A.; ŠVARC-GAJIĆ, J.; GAŠIĆ, U.; TEŠIĆ, Ž.; ZENGIN, G.; ZEKOVIĆ, Z.; ĐUROVIĆ, S. Isolation of apigenin from subcritical water extracts: optimization of the process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 32-42, 2017.

CVETANOVIĆ, A.; ŠVARC-GAJIĆ, J.; MAŠKOVIĆ, P.; SAVIĆ, S.; NIKOLIĆ, L. Antioxidant and biological activity of chamomile extracts obtained by different techniques: perspective of using superheated water for isolation of biologically active compounds. **Industrial Crops and Products**, v. 65, p. 582-591, 2015.

DA COSTA, B. S. L.; DA COSTA VIEIRA, J. L. C.; CARDOSO, A. M.; BORGES, L. L. Otimização da extração assistida por ultrassom de compostos fenólicos totais e flavonoides a partir dos frutos de acerola (*malpighia sp*). **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v. 6, n. 14, 2020.

DA SILVA, T. S.; SOARES, A. A.; ROCHA, T. M.; PIMENTA, A. T.; MIRON, D.; SILVA, R. J.; LEAL, L. K. K. Spondias mombin: Quality control and anti-inflammatory activity in human neutrophils. **Journal of Herbal Medicine**, v. 24, p. 100393, 2020.

DAL SANTO, G.; DE VERAS, B. O.; RICO, E.; DAL MAGRO, J.; AGOSTINI, J. F.; VIEIRA, L. D.; WANDERLEY, A. G. Hexane fraction from Spondias mombin L. (Anacardiaceae) prevents behavioral and oxidative status changes on model of Parkinson's disease in zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 241, p. 108953, 2021.

DE ANDRADE LIMA, M.; CHARALAMPOPOULOS, D.; CHATZIFRAGKOU, A. Optimisation and modelling of supercritical CO2 extraction process of carotenoids from carrot peels. **The Journal Of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 94-102, 2018.

DASH, S.; MOHANTY, S. Mathematical Modeling Aspect in Solvent Extraction of Metals. **Separation & Purification Reviews**, v. 50, n. 1, p. 74-95, 2021.

DE SOUZA FONTES, G.; ELIAS, L.; AOYAMA, E. M. Flora nativa no ensino de botânica: proposta de modelo didático de fruto. **Experiências em Ensino de Ciências**, v. 14, n. 2, p. 385-394, 2019.

DIAS, J. L. **Extração supercrítica e técnicas convencionais de extração na obtenção de compostos bioativos da semente de umbu (*Spondias tuberosa*).** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

DIAS, J. L.; MAZZUTTI, S.; DE SOUZA, J. A.; FERREIRA, S. R.; SOARES, L. A.; STRAGEVITCH, L.; DANIELSKI, L. Extraction of umbu (Spondias tuberosa) seed oil using CO2, ultrasound and conventional methods: Evaluations of composition profiles and antioxidant activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, p. 10-18, 2019.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUEZ, H. Ethanol-modified supercritical CO_2 extraction of chestnut burs antioxidants. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, v. 156, p. 108092, 2020.

DK, A.; ADELUOLA, A. O.; AKINBILE, M. J.; JOHNSON, O. O. Green synthesis of Ag, Zn and Cu nanoparticlesfrom aqueous extract of Spondias mombin leaves and evaluation of their antibacterial activity. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, v. 21, n. 2, p. 106-113, 2020.

DO SACRAMENTO C, K.; DE SOUZA F, X. Cajá. **Embrapa Agroindústria Tropical**. 2009. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11592/1/CL09
011.pdf. Acesso em: 15 dez. 2020.

DOS SANTOS SAMPAIO, T. I.; DE MELO, N. C.; DE FREITAS PAIVA, B. T.; DA SILVA ALELUIA, G. A.; DA SILVA NETO, F. L. P.; DA SILVA, H. R.; CARVALHO, J. C. T. Leaves of Spondias mombin L. a traditional anxiolytic and antidepressant: Pharmacological evaluation on zebrafish (Danio rerio). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 563-578, 2018.

DOS SANTOS-SEREJO, J. A.; DANTAS, J. L. L.; SAMPAIO, C. V.; DA SILVA COELHO, Y. Fruticultura Tropical: espécies regionais e exóticas. **Embrapa Informação Tecnológica**, 2009. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/580793/1/CL09011.pdf. Acesso em: 19 jun. 2021.

DOS SANTOS, C. A. O.; DA SILVA, M. W.; DE MELO SOARES, K.; ROLIM, A. K. A.; SILVA, F. V. D.; DA SILVA ANDRADE, K.; MACÊDO-COSTA, M. R. Atividade antibacteriana de Spondias mombin sobre bactérias superinfectantes do meio ambiente bucal. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 12, p. e6691210695, 2020.

DOS SANTOS, M. C. Q.; DE ARAÚJO, C. R. Fitoterapia como alternativa de imunomodulação em idosos em tempos de covid-19. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ENVELHECIMENTO HUMANO, 7., 2020, Campina Grande. **Anais eletrônicos**... Campina Grande: Editora Realize, 2020. Disponível em: http://editorarealize.com.br/editora/anais/cieh/2020/TRABALHO_EV136_MD1_SA17_ID915_18062020105428.pdf. Acesso em: 20 dez. 2020.

DU, X.; BAI, X.; GAO, W.; JIANG, Z. Properties of soluble dietary fibre from defatted coconut flour obtained through subcritical water extraction. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 54, n. 4, p. 1390-1404, 2019.

DUBA, K. S.; CASAZZA, A. A.; MOHAMED, H. B.; PEREGO, P.; FIORI, L. Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using subcritical water: Experiments and modeling. **Food and bioproducts processing**, v. 94, p. 29-38, 2015.

DZAH, C. S.; DUAN, Y.; ZHANG, H.; WEN, C.; ZHANG, J.; CHEN, G.; MA, H. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. **Food Bioscience**, v. 35, p. 100547, 2020.

ELUFIOYE, T. O.; OBUOTOR, E. M.; AGBEDAHUNSI, J. M.; ADESANYA, S. A. Anticholinesterase constituents from the leaves of Spondias mombin L. (Anacardiaceae). **Biologics: Targets & Therapy**, v. 11, p. 107, 2017.

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.

ESSIEN, S. O., YOUNG, B., BAROUTIAN, S. Recent advances in subcritical water and supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from plant materials. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 156-169, 2020.

FAN, R.; XIANG, J.; LI, N.; JIANG, X.; GAO, Y. Impact of extraction parameters on chemical composition and antioxidant activity of bioactive compounds from Chinese licorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch.) by subcritical water. **Separation Science and Technology**, v. 51, n. 4, p. 609-621, 2016.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Z. Encapsulation of polyphenols-a review. Trends in **Food Science & Technology**, v.21, p. 510-523, 2010.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema.** 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 585 p.

FERREIRA, M.; SOARES, L. **Protocolo de análises externas do Laboratório de farmacognosia** – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

FRANÇA, L. F.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the Extraction of Carotene and Lipids from Pressed Palm Oil (Elaes guineensis) Fibers using Supercritical CO2. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 18, n. 1, p. 35-47, 2000.

FOLIN, O; CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **Journal of Biological Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 627-650, 1927.

GALLEGO, R.; BUENO, M.; HERRERO, M. Sub-and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae–An update. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 198-213, 2019.

GBADAMOSI, I. T. Stay safe: helpful herbal remedies in COVID-19 infection. **African Journal of Biomedical Research**, v. 23, n. 2, p. 131-133, 2020.

GETACHEW, A. T.; CHUN, B. S. Influence of hydrothermal process on bioactive compounds extraction from green coffee bean. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 24-31, 2016.

GHORBANI, A. Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 305-312, 2017.

GOMES, M. S.; LINS, R. D. A. U.; LANGASSNER, S. M. Z.; DA SILVEIRA, É. J. D.; DE CARVALHO, T. G.; DE SOUSA LOPES, M. L. D.; DE ARAÚJO JUNIOR, R. F. Anti-inflammatory and antioxidant activity of hydroethanolic extract of Spondias mombin L.eaf in an oral mucositis experimental model. **Archives of Oral Biology**, v. 111, p. 104664, 2020.

GUEDES, A. C. B.; CORBIN, H. Mulheres quilombolas e medicina popular: um estudo de caso em Santa Rita de Barreira, Pará. **Amazônica-Revista de Antropologia**, v. 12, n. 1, p. 123-143, 2020.

GUEDES, J. A.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, M. F.; RODRIGUES, T. H.; RAMIRES, C.; LIMA, M. A.; ZOCOLO, G. J. GC-MS-based metabolomic profiles combined with chemometric tools and cytotoxic activities of non-polar leaf extracts of Spondias mombin L. and Spondias tuberosa Arr. Cam. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 2, p. 331-340, 2020.

GUEDES, J. A. C.; SANTIAGO, Y. G.; DOS REIS LUZ, L.; SILVA, M. F. S.; RAMIRES, C. M. C., DE LIMA, M. A. C. ZOCOLO, G. J. Comparative analyses of metabolic fingerprint integrated with cytotoxic activity and in silico approaches of the leaves extract of Spondias mombin L. and Spondias tuberosa Arr. Cam. from Northeast, Brazil. **Phytochemistry Letters**, v. 40, p. 26-36, 2020.

HANDA, S. S.; KHANUJA, S. P. S.; LONGO, G.; RAKESH, D. D. **Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants**. v. 1. Trieste: International Centre for Science and High Technology, 2008. 260 p.

HATAMI, T., DOS SANTOS, L. C., ZABOT, G. L., DE ALMEIDA PONTES, P. V., BATISTA, E. A. C., MEI, L. H. I., & MARTÍNEZ, J. Integrated supercritical extraction and supercritical adsorption processes from passion fruit by-product: experimental and economic analyses. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 162, p. 104856, 2020.

HE, L.; ZHANG, X.; XU, H.; XU, C.; YUAN, F.; KNEZ, Ž.; GAO, Y. Subcritical water extraction of phenolic compounds from pomegranate (Punica granatum L.) seed residues and investigation into their antioxidant activities with HPLC–ABTS^{+} assay. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 2, p. 215-223, 2012.

HENG, M. Y.; TAN, S. N.; YONG, J. W. H.; ONG, E. S. Emerging green technologies for the chemical standardization of botanicals and herbal preparations. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 1-10, 2013.

HUIE, C. W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 373, n. 1-2, p. 23-30, 2002.

HWANG, S. J.; KIM, Y. W.; PARK, Y.; LEE, H. J.; KIM, K. W. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. **Inflammation Research**, v. 63, n. 1, p. 81-90, 2014.

IDRUS, N. F. M.; YIAN, L. N.; IDHAM, Z.; ARIS, N. A.; PUTRA, N. R.; AZIZ, A. H. A.; YUNUS, M. A. C. Mini review: Application of supercritical carbon dioxide in extraction of propolis extract. **Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 14, n. 4, p. 387-396, 2018.

ISHOLA, I. O.; IKUOMOLA, B. O.; ADEYEMI, O. O. Protective role of Spondias mombin L.eaf and Cola acuminata seed extracts against scopolamineinduced cognitive dysfunction. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 1, p. 27-39, 2018.

ISOLA, G.; MATARESE, M.; RAMAGLIA, L.; IORIO-SICILIANO, V.; CORDASCO, G.; MATARESE, G. Efficacy of a drug composed of herbal extracts on postoperative discomfort after surgical removal of impacted mandibular third molar: A randomized, triple-blind, controlled clinical trial. **Clinical Oral Investigations**, v. 23, n. 5, p. 2443-2453, 2019.

JAKOBEK, L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. **Food Chemistry**, v. 175, p. 556-567, 2015.

JANZEN, D. H. Spondias mombin is culturally deprived in megafauna-free forest. **Journal of Tropical Ecology**, p. 131-155, 1985.

JIN, Q.; YANG, J.; MA, L.; WEN, D.; CHEN, F.; LI, J. Identification of polyphenols in mulberry (genus Morus) cultivars by liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometer. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 55-64, 2017.

JOANA, G. C. G.; VILLA, J. A.; FERNANDO, A. Z. J.; BASILIO H. J.; SEPULVEDA, D.; YAHIA, E. M.; GONZÁLEZ, A. 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.

JÚNIOR, M. S. B.; ESMERINO, L. A.; SILVA, R. Z.; VOLPATO, A. M. EFEITOS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DA Piper solmsianum E Equisetum arvense. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 13, n. 2, p. 100-106, 2016.

KIM, S. J.; MATSUSHITA, Y.; FUKUSHIMA, K.; AOKI, D.; YAGAMI, S.; YUK, H. G.; LEE, S. C. Antioxidant activity of a hydrothermal extract from watermelons. **LWT-Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 361-368, 2014.

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.

KNEZ, Z.; Enzymatic reactions in subcritical and supercritical fluids. **The Journal of Supercritical Fluids.** v. 134, p. 133-140, 2018.

KO, M. J.; CHEIGH, C. I.; CHUNG, M. S. Optimization of subcritical water extraction of flavanols from green tea leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 28, p. 6828-6833, 2014.

KO, M. J.; KWON, H. L.; CHUNG, M. S. Pilot-scale subcritical water extraction of flavonoids from satsuma mandarin (Citrus unshiu Markovich) peel. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 175-181, 2016.

KOBAYASHI, B. F.; AMARAL, D. R. Efeito de extratos vegetais de plantas do Cerrado para controle de pinta-preta em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 2, p. 189-192, 2018.

KOBUS-CISOWSKA, J.; SZYMANOWSKA-POWAŁOWSKA, D.; SZCZEPANIAK, O.; KMIECIK, D.; PRZEOR, M.; GRAMZA-MICHAŁOWSKA, A; SZULC, P. Composition and In Vitro Effects of Cultivars of Humulus lupulus L. Hops on Cholinesterase Activity and Microbial Growth. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1377, 2019.

KOVACEVIC, D.; MARAS, M.; BARBA, F.J.; GRANATO, D.; ROOHINEJAD, S.; MALLIKARAJUNAN, K.; PUTNIK, P. Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: **A review Food Chemistry**, v. 268, p. 513-521, 2018.

KOYU, H.; KAZAN, A.; OZTURK, T. K.; YESIL-CELIKTAS, O.; HAZNEDAROGLU, M. Z. Optimizing subcritical water extraction of Morus nigra L. fruits for maximization of tyrosinase inhibitory activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 127, p. 15-22, 2017.

KUMAR, S.; GUPTA, R. B. Hydrolysis of microcrystalline cellulose in subcritical and supercritical water in a continuous flow reactor. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 47, n. 23, p. 9321-9329, 2008.

LACHOS-PEREZ, D.; BASEGGIO, A. M.; MAYANGA-TORRES, P. C.; JUNIOR, M. R. M.; ROSTAGNO, M. A.; MARTÍNEZ, J.; FORSTER-CARNEIRO, T. Subcritical water extraction of flavanones from defatted orange peel. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 138, p. 7-16, 2018.

LEE, J. H., KO, M. J.; CHUNG, M. S. Subcritical water extraction of bioactive components from red ginseng (Panax ginseng CA Meyer). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 177-183, 2018.

LI, C.; WANG, L.; CHEN, Z.; LI, Y.; LUO, X.; ZHAO, F. Ozonólise do farelo de trigo em água subcrítica para sacarificação enzimática e recuperação de polissacarídeos. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 168, p. 105092, 2021.

LI, S.; CHEN, F.; JIA, J.; LIU, Z.; GU, H.; YANG, L.; YANG, F. Ionic liquid-mediated microwave-assisted simultaneous extraction and distillation of gallic acid, ellagic acid and essential oil from the leaves of Eucalyptus camaldulensis. **Separation and Purification Technology**, v. 168, p. 8-18, 2016.

LI, S.; LI, S. K.; GAN, R. Y.; SONG, F. L.; KUANG, L.; LI, H. B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 289-298, 2013.

LIU, J.; CHEN, P.; YAO, W.; WANG, J.; WANG, L.; DENG, L.; LEI, J. Subcritical water extraction of betulinic acid from birch bark. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 557-565, 2015.

LIU, X.; YANG, W.; WU, Z.; LONG, Z.; XIAO, H.; LUO, F.; LIN, Q. Elaboration of curcumin-loaded rice bran albumin nanoparticles formulation with increased in vitro bioactivity and in vivo bioavailability**. Food Hydrocolloid**, v. 77, p. 834-842, 2018.

LÓPEZ, W. O. C.; FIGUEREDO, A. D.; MARTÍNEZ, A. D. Análisis del conjunto combustible típico de un reactor nuclear refrigerado por água supercrítica. **Revista Cubana de Ingeniería**, v. 10, n. 2, p. 65-72, 2020.

LUCCHESE, A.; MATARESE, G.; MANUELLI, M.; CIUFFREDA, C.; BASSANI, L.; ISOLA, G.; GHERLONE, E. Reliability and efficacy of palifermin in prevention and management of oral mucositis in patients with acute lymphoblastic leukemia: a randomized, double-blind controlled clinical trial. **Minerva Stomatologica**, v. 65, n. 1, p. 43-50, 2016.

LUCCI, P.; SAURINA, J.; NÚNEZ, O. Trends in LC-MS and LC-HRMS analysis and characterization of polyphenols in food. **Trac Trends in Analytical Chemistry**, v. 88, p. 1-24, 2017.

LUO, Z.; DUAN, H.; YANG, Y.; ZHANG, W.; RAMASWAMY, H. S.; WANG, C. Ultrasound assisted extraction of cadmium for decontamination of rice and its influence on structure/texture of cooked rice. **Journal of Cereal Science**, v. 97, p. 103142, 2021.

MACHADO, A. P. D. F.; PEREIRA, A. L. D.; BARBERO, G. F.; MARTÍNEZ, J. Recovery of anthocyanins from residues of Rubus fruticosus, Vaccinium myrtillus and Eugenia brasiliensis by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. **Food Chemistry**, v. 231, p. 1-10, 2017.

MACHADO, J. C. B. **Estudo de formulação e viabilidade de comprimidos contendo elevado teor de extrato seco por aspersão das folhas de *Spondias mombin* e avaliação da atividade antifúngica.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

MACHADO, J. C. B.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L. Optimization of the drying process of standardized extracts from leaves of *Spondias mombin* L. using Box-Behnken design and response surface methodology. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.45, n. 5, p. 2-42, 2021.

MACHADO, J.C.B.; FERREIRA, M.R.A.; SOARES, L. A. L. *Spondias mombin*: pesquisa e impressões digitais de polifenois. In: PESSOA, D. R. L. (Org.). **Fármacos, Medicamentos, Cosméticos e Produtos Biotecnológicos**. Paraná: Atena, 2021. p. 1-11.

MAIA, J. D.; DE AVILA, C. R.; MEZZOMO, N.; LANZA, M. Evaluation of bioactive extracts of mangaba (Hancornia speciosa) using low and high pressure processes. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 198-210, 2018.

MANACH, C. A.; SCALBERT, C.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.727-747, 2014.

MANOUSI, N.; SARAKATSIANOS, I.; SAMANIDOU, V. Extraction techniques of phenolic compounds and other bioactive compounds from medicinal and aromatic plants. **Engineering Tools in The Beverage Industry**, v. 3, p. 283-314, 2019.

MARTÍNEZ, Julian. **Estudo de modelos de transferência de massa na interface sólido-fluido durante processos de extração supercrítica**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

MARTÍNEZ, Julian. **Extração de óleos voláteis e outros compostos com CO2 supercrítico: desenvolvimento de uma metodologia de aumento de escala a partir da modelagem matemática do processo e avaliação dos extratos obtidos**. Tese **(**Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A. R.; ROSA, P. T.; MARQUES, M. O.; MEIRELES, M. A. A. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 5, p. 1057-1063, 2003.

MARTÍNEZ, J. L. **Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds**. Boca Raton: CRC Press, 2008. 424p.

MARTINS, N.; FERREIRA, I. C. F. R. Wastes and by-products: Upcoming sources of carotenoids for biotechnological purposes and health-related applications. **Trends in Food Science & Technology**, v.62, p.33-48, 2017.

MARTINS, P. M.; LANCHOTE, A. D.; THORAT, B. N.; FREITAS, L. A. Turbo-extraction of glycosides from Stevia rebaudiana using a fractional factorial design. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 510-518, 2017.

MATSUMURA, Y.; MINOWA, T.; POTIC, B.; KERSTEN, S. R.; PRINS, W.; VAN SWAAIJ, W. P.; ANTAL JR, M. J. Biomass gasification in near-and super-critical water: status and prospects. **Biomass and Bioenergy**, v. 29, n. 4, p. 269-292, 2005.

MEIRELES, M. A. A. **Extracting bioactive compounds for food products: theory and applications**. Boca Raton: CRC Press, 2009. 464p.

MERK. Merck KGaA, Darmstadt, Germany. **Product catalog**. 2021. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com>. Acesso em: 25 jun. 2021.

MILENKOVIC, D.; MORAND, C.; CASSIDY, A.; KONIC-RISTIC, A.; TOMÁS-BARBERÁN, F.; ORDOVAS, J. M.; RODRIGUEZ-MATEOS, A. Interindividual variability in biomarkers of cardiometabolic health after consumption of major plant-food bioactive compounds and the determinants involved. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 4, p. 558-570, 2017.

MIRON, T. L.; PLAZA, M.; BAHRIM, G.; IBÁÑEZ, E.; HERRERO, M. Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 30, p. 4918-4927, 2011.

MORALES, D.; SMIDERLE, F. R.; VILLALVA, M.; ABREU, H.; RICO, C.; SANTOYO, S.; SOLER-RIVAS, C. Testing the effect of combining innovative extraction technologies on the biological activities of obtained β-glucan-enriched fractions from Lentinula edodes. **Journal of Functional Foods**, v. 60, p. 103446, 2019.

MOUAHID, A.; CRAMPON, C.; TOUDJI, S. A. A.; BADENS, E. Effects of high water content and drying pre-treatment on supercritical CO2 extraction from Dunaliella salina microalgae: Experiments and modelling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 271-280, 2016.

MOURA, T. F. A. L.; VASCONCELOS, E. A. F.; BARBOSA, R. M.; MEDEIROS, M. G. F. Influência do processo extrativo, solvente e tamanho da partícula do material vegetal no teor de sólidos totais da solução extrativa da Schinus terebinthifolius Raddi**. Revista Fitos**, v. 1, n. 1, p. 74-79, 2005.

MPHAHLELE, R. R.; FAWOLE, O. A.; MAKUNGA, N. P.; OPARA, U. L. Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 143, 2016.

MUNIR, M. T.; KHEIRKHAH, H.; BAROUTIAN, S.; QUEK, S. Y.; YOUNG, B. R. Subcritical water extraction of bioactive compounds from waste onion skin. **Journal of Cleaner Production**, v. 183, p. 487-494, 2018.

MUÑOZ-ALMAGRO, N.; VALADEZ-CARMONA, L.; MENDIOLA, J. A.; IBÁÑEZ, E.; VILLAMIEL, M. Structural characterisation of pectin obtained from cacao pod husk. Comparison of conventional and subcritical water extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 217, p. 69-78, 2019.

NAGY, B.; SIMÁNDI, B. Effects of particle size distribution, moisture content, and initial oil content on the supercritical fluid extraction of paprika. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 46, n. 3, p. 293-298, 2008.

NAKAJIMA, H.; **Mass transfer advances in sustainable energy and environment oriented numerical modelling**. Croatia: InTech, 2013. 524p.

NASCIMENTO, A. D. P.; SOARES, L. A. L.; STRAGEVITCH, L.; DANIELSKI, L. Extraction of Acrocomia intumescens Drude oil with supercritical carbon dioxide: Process modeling and comparison with organic solvent extractions. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 1-7, 2016.

NASTIC, N.; GAJIC, J.; MATOS, C.; BARROSO, M.F.; SOARES, C.; MOREIRA, M.M.; MORAIS, S.; MASKOVIC, P.; SRCEK, V.G.; SLIVAC, I.; RADOSEVIC, K.; RADOJKOVIC, M.; Subcritical water extraction as an environmentally-friendly technique to recover bioactive compounds from traditional Serbian medicinal plants. **Industrial Crops & Products**. V. 111, p. 579-589, 2018.

NILE, S. H.; NILE, A.; GANSUKH, E.; BASKAR, V.; KAI, G. Subcritical water extraction of withanosides and withanolides from ashwagandha (Withania somnifera L) and their biological activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 132, p. 110659, 2019.

NIMET, G.; SILVA, E. A.; PALÚ, F.; DARIVA, C.; FREITAS, L. S.; MEDINA, N. A.; CARDOZO-FILHO L. Extraction of sunflower (Heliantus annuus L.) oil with supercritical CO2 and subcritical propane: Experimental and modeling, **Chemical Engineering Journal**, 168, p. 262-268, 2011.

NKURUNZIZA, D.; PENDLETON, P.; CHUN, B. S. Optimization and kinetics modeling of okara isoflavones extraction using subcritical water. **Food chemistry**, v. 295, p. 613-621, 2019.

NWORU, C. S.; AKAH, P. A.; OKOYE, F. B.; TOUKAM, D. K.; UDEH, J.; ESIMONE, C. O. The leaf extract of Spondias mombin L. displays an anti-inflammatory effect and suppresses inducible formation of tumor necrosis factor-α and nitric oxide (NO). **Journal of Immunotoxicology**, v. 8, n. 1, p. 10-16, 2011.

OFFIAH, V. N.; ANYANWU, I. I. Abortifacient activity of an aqueous extract of Spondias mombin L. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 26, n. 3, p. 317-320, 1989.

OMOREGIE, E. S.; OIKEH, E. I. Comparative studies on the phytochemical composition, phenolic content and antioxidant activities of methanol leaf extracts of Spondias mombin and Polyathia longifolia. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 8, n. 2, p. 145-149, 2015.

OSUNTOKUN, O. T. Synergistic efficacy of Aframomum melegueta [Roscoe] K. Schum and Spondias mombin (Linn). A predictive treatment of SARS-CoV-2 (COVID-19) Infection. **Journal of Bioscience & Biomedical**, v.1, p. 1- 8, 2020.

OSUNTOKUN, O. T.; IDOWU, T. O.; GAMBERINI, M. C. Antibacterial and Antifungal Efficacy of Partially Partitioned Fractions of Spondias mombin (Linn) Extracts (Root, Leaf and Stem Bark) against Clinical and Environmental Isolates. **Medical Chemistry**, v.8, p. 415-422, 2018.

PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENI, A. L. B.; AMANTE, E. R; AMBONI, R. D. D. M. C. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (Ilex paraguariensis A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 173-178, 2010.

PEDRAS, B. M.; REGALIN, G.; SÁ-NOGUEIRA, I.; SIMÕES, P.; PAIVA, A.; BARREIROS, S. Fractionation of red wine grape pomace by subcritical water extraction/hydrolysis. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 160, p. 104793, 2020.

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.

PETERSON, A. A.; VOGEL, F.; LACHANCE, R. P.; FRÖLING, M.; ANTAL JR, M. J.; TESTER, J. W. Thermochemical biofuel production in hydrothermal media: a review of sub- and supercritical water technologies. **Energy & Environmental Science**, v. 1, n. 1, p. 32-65, 2008.

PIVA, G. S.; WESCHENFELDER, T. A.; FRANCESCHI, E.; CANSIAN, R. L.; PAROUL, N.; STEFFENS, C. Extraction and modeling of flaxseed (Linnum usitatissimum) oil using subcritical propane. **Journal of Food Engineering**, v. 228, p. 50-56, 2018.

PLAZA, M.; TURNER, C. Pressurized hot water extraction of bioactives. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 39-54, 2015.

POJICA, M.; MISANA, A.; TIWARI, B. Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 93-104, 2018.

PRADO, I. M.; PRADO, G. H. C.; PRADO, J. M.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical CO2 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.

PUTNIK, P.; LORENZO, J.M.; BARBA, F.J.; ROOHINEJAD, S.; JAMBRAK, A.R; GRANATO, D.; KOVACEVIC, B. Novel food processing and extraction technologies of high-added value compounds from plant materials. **Food**, v. 7, p. 106-122, 2018.

QIAN, L.; WANG, S.; XU, D.; GUO, Y.; TANG, X.; WANG, L. Treatment of municipal sewage sludge in supercritical water: a review. **Water research**, v. 89, p. 118-131, 2016.

QUISPE-CONDORI, S.; S´ANCHEZ, D.; FOGLIO, M. A.; ROSA, P. T. V.; ZETZL, C.; BRUNNER, G.; MEIRELES, M. A. A. Global yield isotherms and kinetic of artemisinin extraction from *Artemisiaannua* L leaves using supercritical carbon dioxide. **J. of Supercritical Fluids.** v.36, p.40-48, 2005.

RAHMAN, F.; TABREZ, S.; ALI, R.; ALQAHTANI, AS.; AHMED, MZ.; RUB, A. A análise de docking molecular da rutina revela uma possível inibição das proteínas vitais SARS-CoV-2. **Jornal da Medicina Tradicional e Complementar**, v. 11, n. 2, pág. 173-179, 2021.

RAMOS, R. T.; BEZERRA, I. C.; FERREIRA, M. R.; SOARES, L. A. L. Spectrophotometric quantification of flavonoids in herbal material, crude extract, and fractions from leaves of Eugenia uniflora Linn. **Pharmacognosy Research**, v. 9, n. 3, p. 253, 2017.

REY-BLANES, C.; PÉREZ-PORTERO, Y.; MORRIS-QUEVEDO, H. J.; CASAS, V., ABDALA, R., QUESADA, A. R.; MEDINA, M. Á. In vitro evaluation of the antitumoral and antiangiogenic effects of extracts from Spondias mombin L. leaves. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 131, p. 110716, 2020.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Solvent Influence on total polyphenol content, anthocyanins, and antioxidant activity of grape (Vitis vinifera) bagasse extracts from Tannat and Ancelota - different varieties of Vitis vinifera varieties**. Food Science and Technology**, v. 28, p. 238-244, 2008.

RODRIGUES, D. A.; DE FÁTIMA SALES, J.; VASCONCELOS-FILHO, S. C.; RODRIGUES, A. A.; COSTA, A. C.; RODRIGUES, C. L.; MÜLLER, C. Spondias mombin, a potential bioindicator of potassium fluoride pollution. **Ecological Indicators**, v. 114, p. 106314, 2020.

RODRIGUES, L. G. G.; MAZZUTTI, S.; SIDDIQUE, I.; DA SILVA, M.; VITALI, L.; FERREIRA, S. R. S. Subcritical Water Extraction and Microwave-Assisted Extraction applied for the recovery of bioactive components from Chaya (Cnidoscolus aconitifolius Mill.). **The Journal of Supercritical Fluids**, p. 104976, 2020.

ROSTAGNO, M. A.; PRADO, J. M. **Natural Product Extraction: Principles and Applications**. n. 21. Londres: Royal Society of Chemistry, 2013. 469p.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; DE BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; CALIXTO, S. 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.

SABIU, S.; GARUBA, T.; SUNMONU, T.; AJANI, E.; SULYMAN, A.; NURAIN, I.; BALOGUN, A. Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: protective roles of Spondias mombin and Ficus exasperata. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 261-267, 2015.

SADEGHMOUSAVI, S. Subcritical water extraction of fennel seeds essential oil and comparison with hydrodistillation. **Food Science and Technology**, v. 16, n. 91, p. 119-128, 2019.

SAGAR, N.A., PAREEK, S., SHARMA, S., YAHIA, E.M., LOBO, M.G. Fruit and vegetable waste: bioactive compounds, their extraction, and possible utilization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.17, n. 3, p. 512–531, 2018.

SALEH, M. S.; KAMISAH, Y. Potential Medicinal Plants for the Treatment of Dengue Fever and Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus. **Biomolecules**, v. 11, n. 1, p. 42, 2021.

SAMADI, M.; ZAINAL ABIDIN, Z.; YOSHIDA, H.; YUNUS, R.; AWANG BIAK, D. R.; LEE, C. H.; LOK, E. H. Subcritical water extraction of essential oil from Aquilaria malaccensis leaves. **Separation Science and Technology**, v. 55, n. 15, p. 2779-2798, 2020.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 567-573, 2000.

SANTOS, D.; MEIRELES, A. A. Extraction of volatile oils by supercritical fluid extraction: patent survey. **Recent Patents on Engineering**, v. 5, n. 1, p. 17-22, 2011.

SARAVANA, P. S.; TILAHUN, A.; GERENEW, C.; TRI, V. D.; KIM, N. H.; KIM, G. D.; CHUN, B. S. Subcritical water extraction of fucoidan from Sac. Subcritical water extraction of fucoidan from Saccharina japonica: optimization, characterization and biological studies. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 579-590, 2018.

SARFARAZI, M.; JAFARI, S. M.; RAJABZADEH, G.; FEIZI, J. Development of an environmentally-friendly solvent-free extraction of saffron bioactives using subcritical water. **LWT**, v. 114, p. 108428, 2019.

SARKER, S. D.; LATIF, Z.; GRAY, A. I. **Natural Products Isolation**. 2. ed. New Jersey: Human Press, 2006. p. 529.

SATO, T. S.; MEDEIROS, T. M. D.; HOSCHEID, J.; PROCHNAU, I. S. Proposta de formulação contendo extrato de folhas de *Eugenia involucrata* e análise da atividade antimicrobiana**. Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 68-82. 2018.

SAVIC GAJIC, I. M.; SAVIC, I. M.; GAJIC, D. G.; DOSIC, A. Ultrasound-Assisted Extraction of Carotenoids from Orange Peel Using Olive Oil and Its Encapsulation in Ca-Alginate Beads. **Biomolecules**, v. 11, n. 2, p. 225, 2021.

SCALIA, S.; GIUFFREDA, L.; PALLADO, P. Analytical and preparative supercritical fluid extratction of Chamomile flowers and its comparison with conventional methods. **Journal of Pharmaceutical an Biomedical Analysis**, v. 21, p. 549-558, 1999.

SEREEWATTHANAWUT, I.; PRAPINTIP, S.; WATCHIRARUJI, K.; GOTO, M.; SASAKI, M.; SHOTIPRUK, A. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 3, p. 555-561, 2008.

SERRANO, A. B.; FONT, G.; MAÑES, J.; FERRER, E. Comparative assessment of three extraction procedures for determination of emerging Fusarium mycotoxins in pasta by LC–MS/MS. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 105-114, 2013.

SHITU, A.; IZHAR, S.; TAHIR, T. M. Sub-critical water as a green solvent for production of valuable materials from agricultural waste biomass: A review of recent work (review paper). **Global Journal of Environmental Science and Management**, v.1, n. 3, p. 255-264, 2015.

SILVA, E. F. D.; MARTINS, L. S. S.; OLIVEIRA, V. R. D. Diversity and genetic struture in caja tree (Spondias mombin L.) populations in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 1, p. 171-181, 2009.

SILVA, L. L.; OLIVEIRA, G. M. G.; NETO, M. J. Atividade fungicida de plantas do cerrado contra micoses superficiais e cutâneas. **Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA**, v. 6, n.1, p. 1-16, 2018.

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.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK. P. R. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed 2017. 319p.

SINGH, P. P.; SALDAÑA, M. D. Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. **Food Research International**, v. 44, n. 8, p. 2452-2458, 2011.

SINGH, S. K. **Handbook on cosmetics (Processes, formulae with testing methods)**. Delhi: Asia Pacific Business Press Inc., 2010. 688p.

SOUZA, G. D S.; SILVA, B. V.C. Natureza dab Ciência por alunos de Licenciatura em Física. **Latin-American Journal of Physics Education**, v. 7, n. 4, 2013.

SUGANDHA, N. J.; SAHA, S.; ISLAM, F.; ANJUM, S. N.; UDDIN, A.; BRISHTI, A. A. S.; AZAD, A. K. Pharmacological activities of Spondias momibin L: A remarkable medicinal plant. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v.9, n. 15, p. 118-129, 2020.

SUSANTI, R. F.; KURNIA, K.; VANIA, A.; REYNALDO, I. J. Total phenol, flavanoid and antioxidant activity of Physalis angulata leaves extract by subcritical water extraction. **Mod App Science**, v. 9, n. 7, p. 190-8, 2015.

TEO, C. C.; TAN, S. N.; YONG, J. W. H.; HEW, C. S.; ONG, E. S. Pressurized hot water extraction (PHWE). **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2484-2494, 2010.

TEODORO, A. J. Bioactive Compounds of Food: Their Role in the Prevention and Treatment of Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 4, 2019.

THIRUVENKADAM, S.; IZHAR, S.; YOSHIDA, H.; DANQUAH, M.K.; HARUN, R.; Process application of Subcritical Water Extraction (SWE) for algal bio-products and biofuels production. **Applied Energy**. v. 154, p. 815-828, 2015.

THOO, Y. Y.; HO, S. K.; LIANG, J. Y.; HO, C. W.; TAN, C. P. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (Morinda citrifolia). **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 290-295, 2010.

TOMŠIK, A.; PAVLIĆ, B.; VLADIĆ, J.; CINDRIĆ, M.; JOVANOV, P.; SAKAČ, M.; VIDOVIĆ, S. Subcritical water extraction of wild garlic (Allium ursinum L.) and process optimization by response surface methodology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 79-88, 2017.

TSHIBANGU, D. S.; MATONDO, A.; LENGBIYE, E. M.; INKOTO, C. L.; NGOYI, E. M.; KABENGELE, C. N.; MPIANA, P. T. Possible effect of aromatic plants and essential oils against COVID-19: Review of their antiviral activity. **Journal of Complementary and Alternative Medical Research**, p. 10-22, 2020.

TURNER, C.; IBAÑEZ, E. Pressurized hot water extraction and processing. In: LEBOVKA, N., VOROBIEV, E., CHEMAT, F. (Org.). **Enhancing Extraction Processes in the Food Industry**. Boca Raton: CRC PRESS, 2012. p. 223-254.

VEGGI, P. C.; CAVALCANTI, R. N.; MEIRELES, M. A. A. Production of phenolic-rich extracts from Brazilian plants using supercritical and subcritical fluid extraction: experimental data and economic evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 96-109, 2014.

VERHULST, P. F. Notice sur la Loi que la Population Suit dans son Accroissement. **Correspondance Mathématique et Physique**, v. 10, p. 113-126, 1838.

VIEIRA, V.; PRIETO, M. A.; BARROS, L.; COUTINHO, J. A. P.; FERREIRA, O.; FERREIRA, I. C. F. R. Optimization and comparison of maceration and microwave extraction systems for the production of phenolic compounds from Juglans regia L. for the valorization of walnut leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 341-352, 2017.

VILLEGAS, L.F.; FERNANDEZ, I.D.; MALDONADO, H.; TORRES, R.; ZAVALETA, A; VAISBERG, A.J.; HAMMOND, G.B. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 55, n.3, p. 193-200, 1997.

VLADIĆ, J.; JANKOVIĆ, T.; ŽIVKOVIĆ, J.; TOMIĆ, M., ZDUNIĆ, G.; ŠAVIKIN, K.; VIDOVIĆ, S. Comparative Study of Subcritical Water and Microwave-Assisted Extraction Techniques Impact on the Phenolic Compounds and 5-Hydroxymethylfurfural Content in Pomegranate Peel. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, n. 4, p. 553-560, 2020.

WANG, X.; ZENG, Z.; TIAN, Z.; SUN, J.; LI, Y.; FAN, X. Validation of spectrophotometric determination of chlorogenic acid in fermentation broth and fruits. **Food Chemistry**, v. 278, p. 170-177, 2019.

WEN, C.; ZHANG, J.; ZHANG, H.; DZAH, C. S.; ZANDILE, M.; DUAN, Y.; LUO, X. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops–A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 48, p. 538-549, 2018.

WU, H.; LI, C.; LI, Z.; LIU, R.; ZHANG, A.; XIAO, Z.; DENG, S. Simultaneous extraction

of oil and tea saponin from Camellia oleifera Abel. seeds under subcritical water conditions. **Fuel Processing Technology**, v. 174, p. 88-94, 2018.

YANG, R.G.Y.; SUN, M.; ZHANG, Z.K.; ZHOU, Q.H.; STRAPPE P.; BLANCHARD, C. Epigallocatechin Gallate (EGCG) decorating soybean seed ferritin as a rutin nanocarrier with prolonged release property in the gastrointestinal tract. **Plant Foods for Human Nutrition,** v.71, p. 277-285, 2016.

ZAKARIA, S. M.; KAMAL, S. M. M. Subcritical water extraction of bioactive compounds from plants and algae: applications in pharmaceutical and food ingredients. **Food Engineering Reviews**, v. 8, n. 1, p. 23-34, 2016.

ZAPATA-MORALES, J. R.; ALONSO-CASTRO, A. J.; MUÑOZ-MARTÍNEZ, G. S.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, M. M.; NAMBO-ARCOS, M. E.; BRENNAN-BOURDON, L. M.; MARTÍNEZ-MORALES, J. F L. In vitro and in vivo synergistic interactions between the flavonoid rutin with paracetamol and non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Archives of Medical Research**, 2021.

ZHANG, G.; CHI, X. A green strategy for obtaining anthraquinones from Rheum tanguticum by subcritical water. **Open Chemistry**, v. 18, n. 1, p. 702-710, 2020.

ZHANG, J.; WEN, C.; ZHANG, H.; DUAN, Y.; MA, H. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 95, p. 183-195, 2020.

ZHANG, L.; FAN, G.; KHAN, M. A.; YAN, Z.; BETA, T. Ultrasonic-assisted enzymatic extraction and identification of anthocyanin components from mulberry wine residues. **Food Chemistry**, v. 323, p. 126714, 2020.

ZHAO, Y.; SALDAÑA, M. D. Use of potato by-products and gallic acid for development of bioactive film packaging by subcritical water technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, p. 97-106, 2019.

ZHOU, Y.; TANG, R. C. Natural flavonoid-functionalized silk fiber presenting antibacterial, antioxidant, and UV protection performance. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 5, n. 11, p. 10518-10526, 2017.

ZHU, G., ZHU, X., XIAO, Z., ZHOU, R., FENG, N., NIU, Y. A review of amino acids extraction from animal waste biomass and reducing sugars extraction from plant waste biomass by a clean method. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 5, p. 309-320, 2015.

ZIERO, H. D. D.; BULLER, L. S.; MUDHOO, A.; AMPESE, L. C.; MUSSATTO, S. I.; CARNEIRO, T. F. An overview of subcritical and supercritical water treatment of different biomasses for protein and amino acids production and recovery. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, p. 104406, 2020.

ZLOTEK, U.; SZYMANOWSKA, U.; KARA, M.; WIECA, M. Antioxidative and antiinflammatory potential of phenolics from purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves induced by jasmonic, arachidonic and -aminobutyric acid elicitation. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 51, n. 1, p. 163-170, 2016.