



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE ALIMENTOS - PPGEAL
CURSO DE DOUTORADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**GUANXUMA (*Sida rhombifolia* L.): OBTENÇÃO DE EXTRATOS COM POTENCIAL
ANTIOXIDANTE POR MÉTODOS À ALTA PRESSÃO E ENCAPSULAÇÃO VIA
*SPRAY-DRYING***

Florianópolis

2019

DIEGO MÁRLON FERRO

**GUANXUMA (*Sida rhombifolia* L.): OBTENÇÃO DE EXTRATOS COM POTENCIAL
ANTIOXIDANTE POR MÉTODOS À ALTA PRESSÃO E ENCAPSULAÇÃO VIA
*SPRAY-DRYING***

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos da Universidade
Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau
de doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Sandra R. S. Ferreira

Co-orientador: Prof^ª. Dr^ª. Carmen M. O. Müller

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Ferro, Diego Márlon
GUANXUMA (*Sida rhombifolia* L.): OBTENÇÃO DE
EXTRATOS COM POTENCIAL ANTIOXIDANTE POR MÉTODOS A
ALTA PRESSÃO E ENCAPSULAÇÃO VIA SPRAY-DRYING /
Diego Márlon Ferro ; orientadora, Sandra Regina
Salvador Ferreira, coorientadora, Carmen Maria
Oliveira Muller, 2019.
221 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós
Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis,
2019.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Extração de
compostos bioativos. 3. Biorrefinaria. 4. Modelagem
matemática. 5. Atividade antioxidante com aplicação
em alimentos. I. Ferreira, Sandra Regina Salvador .
II. Muller, Carmen Maria Oliveira. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Diego Márlon Ferro

Guanxuma (*Sida rhombifolia* L.): obtenção de extratos com potencial antioxidante por métodos a alta pressão e encapsulação via *spray-drying*

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Dra. Kátia S. Andrade

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Germán A. Valencia.

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Cristiano J. de Andrade

Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutor em Engenharia de Alimentos, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof.^a Dra. Sandra R. S. Ferreira

Co-ordenadora

Prof.^a Dra. Sandra R. S. Ferreira

Orientadora

Florianópolis, 12 de junho de 2019.

Este trabalho é dedicado à minha família. Essa é uma conquista nossa!

“Nem sempre o mínimo que faço é pouco, nem sempre o máximo é suficiente, só que meu ser tende a cuidar com jeito, do que preciso pra seguir em frente” (Zeca Alves).

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção e sempre guiar meus passos.

Minha família, meu chão, meu refúgio. Meu pai Jolcemar por ser meu maior exemplo e incentivador, por acreditar que podemos fazer sempre o melhor de nós e fazendo o bem. Minha mãe Lisabete pelo amor, ombro e exemplo de mulher. Pedro Augusto meu irmão seguindo os mesmos passos destes nossos exemplos maiores, dá orgulho.

À professora Sandra R. S. Ferreira pela orientação, confiança, motivação, força e ensinamentos que me levaram a conclusão deste trabalho. Te levo como exemplo de mestre.

À co-orientação da professora Carmen M. O. Müller por aceitar o desafio, auxiliar e orientar com importantes contribuições.

Ao PPGEAL/UFSC pela oportunidade de cursar o doutorado, aos professores pelos ensinamentos ao longo desses anos.

À CAPES pelo suporte financeiro.

Aos membros da banca por aceitarem avaliar este trabalho e pelas contribuições que enriquecem o estudo.

Aos colegas do LATESC pelos momentos de trabalho, descontração e amizade. Só quem tem a oportunidade de passar por este ambiente é conhecedor do quão especial és. Levo daqui amizades eternas.

O mesmo ambiente agradável me possibilitou também encontrar a melhor companhia, a melhor parceira de todas as horas e que me faz pensar que a eternidade é pouco tempo para se ter ao seu lado. Camila, com seu sorriso vem a certeza de um futuro iluminado! Obrigado!

À todos, que dê alguma forma contribuíram para a concretização deste estudo.

Muitíssimo obrigado!

RESUMO

Sida rhombifolia é uma planta extensivamente conhecida no Brasil, principalmente pelo nome popular Guanxuma. Sua popularidade como erva medicinal é reconhecida em várias partes do mundo, no entanto, ainda são escassos os estudos mais aprofundados que elucidem seus benefícios. O objetivo deste estudo foi selecionar dentre as técnicas de extração, convencionais em comparação à métodos mais avançados, a rota que melhor corresponde a extração de compostos bioativos a partir de *S. rhombifolia*. Extração Supercrítica (ESC) e Extração com Líquido Pressurizado (PLE), foram avaliadas e integradas para recuperar compostos fenólicos das folhas de *S. rhombifolia*. Além disso, foi avaliada a despressurização na ESC visando aumentar a eficiência do PLE num conceito de biorrefinaria. O conteúdo fenólico total dos extratos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, e a atividade antioxidante in vitro foi obtida pelos métodos DPPH e ABTS, enquanto a análise de ruptura da parede celular decorrente do processo de despressurização foi comprovada pela análise de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). O maior teor fenólico (91 mg GAE·g⁻¹) e a capacidade antioxidante por ABTS (4,3 mmol TE·g⁻¹ extrato) foram obtidos por PLE a partir do resíduo da ESC após rápida taxa de despressurização. A análise de dados obtidos por cromatografia LC-ESI-MS/MS identificou 31 compostos fenólicos dos extratos, dos quais 21 foram reportados pela primeira vez em associação com a *S. rhombifolia*. Isoquercitina foi o principal fenólico dos extratos. A integração dos processos ESC e PLE possibilitou recuperar diferentes frações das folhas de *S. rhombifolia* e melhorou o rendimento de processo e o potencial antioxidante dos extratos. A segunda parte do trabalho consistiu avaliação do escalonamento em quatro vezes a quantidade amostral de PLE para viabilizar maior recuperação em massa do extrato vegetal, com as características apresentadas na primeira etapa deste estudo. Para tanto, os dados experimentais foram modelados matematicamente, para descrever o comportamento de transferência de massa na fase soluto/solvente, sendo que o modelo de Sovová (1994) demonstrou o melhor ajuste, seguido de Martínez (2003) e Esquível (1999), respectivamente. Os resultados para atividade antioxidante não apresentaram diferença estatística (p>0,05) entre os processos de diferentes escalas. Já para composição de fenólicos, os extratos obtidos na escala ampliada foram estatisticamente superiores aos da menor escala (CFT 62,97 e 74,57 (mg EAG·g⁻¹)), o que pode ser atribuído à maior massa de amostras envolvida no processo, mas que também corresponde à uma maior recuperação de compostos bioativos. Dessa forma, um maior volume de extrato possibilita a manipulação do mesmo para confecção de produtos com propriedades antioxidantes de fonte renovável. Para tanto, na terceira parte do trabalho a técnica de microencapsulação do extrato de *S. rhombifolia* por meio de *spray-drying* visa proporcionar a manutenção da estabilidade do extrato. *Spray-dry* é uma operação unitária de secagem, técnica difundida no setor industrial de produção alimentos. A formação de microcápsulas por meio desta técnica está associada à utilização de um material encapsulante, nesse caso a maltodextrina (MD) (DE-10) à 20 % (m/m) foi estudada como amostra controle (MSD). Foram avaliadas, incorporações de 2,5 e 5,0 % de extrato de *S. rhombifolia* como material de núcleo nas soluções base (MD + água) para a encapsulação, denominadas ME 2,5 e ME 5,0, respectivamente. A obtenção de microcápsulas foi avaliada quanto à eficiência do processo e sua morfologia por meio de imagens em MEV. A autofluorescência atribuída aos compostos fenólicos foi observada por meio dos ensaios de Microscopia de Fluorescência, indicando que os compostos presentes no extrato emitem fluorescência e assim corroboram com os resultados de MEV, onde foi possível observar partículas de núcleo em cápsulas fragmentadas. Além disso, as análises térmicas indicam resultados de maior estabilidade ao ME 2,5. Os parâmetros

de cor indicaram que MD protegeu as microcápsulas pela formação de revestimento ao extrato, mas também expõem diferença na variação de cor entre ME 2,5 e ME 5,0. As análises de capacidade de retenção a óleo (CRO) e capacidade de retenção a água (CRA) indicaram que os materiais microencapsulados são altamente higroscópicos, uma vez que as amostras foram totalmente solubilizadas no ensaio de CRA, e baixa CRO. A cinética de adsorção de umidade foi avaliada em 8,25 h até a estabilização da umidade relativa, os dados obtidos tiveram bons ajustes ao modelo de Peleg. As curvas de isotermas de adsorção apresentaram um aumento da umidade de equilíbrio com o aumento da atividade de água, com melhores ajustes ($R^2 \geq 0,99$) para o modelo de GAB em comparação ao modelo de BET. Portanto, a microencapsulação de compostos fenólicos de fonte vegetal renovável pode ser uma alternativa viável à obtenção de produto para incorporação na formulação de alimentos.

Palavras-chave: *S. rhombifolia*; Extração Supercrítica; Biorrefinaria; Extração Líquida Pressurizada; Modelagem Matemática; *Spray-dry*; Microencapsulação.

ABSTRACT

Sida rhombifolia is a plant widely known in Brazil, mainly by the popular name Guanxuma. Its popularity as a medicinal herb is recognized in many parts of the world; however, further studies to elucidate its benefits are still scarce. The aim of this study was to select among the conventional extraction techniques compared to the most advanced methods, the route that best corresponds to the extraction of bioactive compounds from *S. rhombifolia*. Supercritical Extraction (SFE) and Pressurized Liquid Extraction (PLE) were evaluated and integrated to recover phenolic compounds from *S. rhombifolia* leaves. In addition, depressurization in SFE was evaluated to increase the efficiency of PLE in a biorefinery concept. The total phenolic content of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method, and the in vitro antioxidant activity was obtained by the DPPH and ABTS methods, while the cell wall rupture analysis resulting from the depressurization process was confirmed by the scanning electron microscopy analysis (SEM). The highest phenolic content (91 mg GAE · g⁻¹) and antioxidant capacity by ABTS (4.3 mmol TE · g⁻¹ extract) were obtained by PLE from the SFE residue after rapid depressurization rate. LC-ESI-MS / MS chromatographic data analysis identified 31 phenolic compounds from the extracts, 21 of which were first reported in association with *S. rhombifolia*. Isoquercitin was the main phenolic of the extracts. The integration of SFE and PLE processes made it possible to recover different fractions of *S. rhombifolia* leaves and improved the process yield and antioxidant potential of the extracts. The second part of the work consisted of evaluation of the four times the sample quantity of PLE to enable greater mass recovery of the plant extract, with the characteristics presented in the first stage of this study. For this, the experimental data were mathematically modeled to describe the mass transfer behavior in the solute / solvent phase, and the Sovová (1994) model showed the best fit, followed by Martínez (2003) and Esquivel (1999), respectively. The results for antioxidant activity showed no statistical difference ($p > 0.05$) between the processes of different scales. For phenolic composition, the extracts obtained in the enlarged scale were statistically superior to those of the smaller scale (CFT 62.97 and 74.57 (mg EAG · g⁻¹)), which can be attributed to the larger sample mass involved in the study. process but also corresponds to a greater recovery of bioactive compounds. Thus, a larger volume of extract allows its manipulation to produce products with antioxidant properties of renewable source. Therefore, in the third part of the work the technique of microencapsulation of *S. rhombifolia* extract by *spray drying* aims to maintain the stability of the extract. *Spray-dry* is a unitary drying operation, a widespread technique in the industrial food production sector. Microcapsule formation by this technique is associated with the use of an encapsulating material, in which case the 20% (w / w) maltodextrin (MD) (DE-10) was studied as a control sample (MSD). Incorporations of 2.5 and 5.0% *S. rhombifolia* extract as core material in the base solutions (MD + water) for the encapsulation, called ME 2.5 and ME 5.0, respectively, were evaluated. Microcapsules were evaluated for process efficiency and morphology through SEM images. The autofluorescence attributed to phenolic compounds was observed through the fluorescence microscopy assays, indicating that the compounds present in the extract emit fluorescence and thus corroborate the SEM results, where it was possible to observe nucleus particles in fragmented capsules. In addition, thermal analyzes indicate results of greater stability to ME 2.5. The color parameters indicated that MD protected the microcapsules by coating formation on the extract, but also expose difference in color variation between ME 2.5 and ME 5.0. Oil retention capacity (ORC) and water retention capacity (WRC) analyzes indicated that microencapsulated materials are highly hygroscopic since the samples were fully solubilized in the WRC assay and low ORC. Moisture adsorption

kinetics was evaluated at 8.25 h until the relative humidity stabilization, the obtained data had good adjustments to the Peleg model. Adsorption isotherm curves showed an increase in equilibrium moisture with increasing water activity, with better adjustments ($R^2 \geq 0.99$) for the GAB model compared to the BET model. Therefore, microencapsulation of phenolic compounds from renewable plant sources may be a viable alternative to obtaining product for incorporation into the food formulation.

Keywords: *S. rhombifolia*; Supercritical Extraction; Biorefinery; Pressurized Liquid Extraction; Mathematical Modeling; *Spray-dry*; Microencapsulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação da distribuição da família Malvaceae no mundo	26
Figura 2 – Imagem do exemplar de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	28
Figura 3 - Estabilização do radical DPPH	32
Figura 4 - Estabilização do radical ABTS	33
Figura 5 – Estrutura básica de Flavonoides.....	34
Figura 6 – Ilustração do aparato para Extração em Soxhlet.....	30
Figura 7 – Colapso da matriz sólida mediante bolhas de cavitação	32
Figura 8 – Diagrama de fases para um componente puro	33
Figura 9 – Esquema simplificado do processo ESC.....	34
Figura 10 – Ilustração da Curva Global de Extração (CGE).....	35
Figura 11 – Esquema simplificado do processo PLE	37
Figura 12 – Local de coleta da Guanxuma	39
Figura 13 – Aparato experimental do método de extração por Soxhlet.....	41
Figura 14 – Unidade de extração supercrítica do LATESC	43
Figura 15 – Diagrama ilustrativo da unidade de extração supercrítica	43
Figura 16 – Representação da montagem do leito na coluna de extração.....	46
Figura 17 – Unidade de Extração com líquido pressurizado do LATESC.....	47
Figura 18 – Diagrama ilustrativo da unidade extração com líquido pressurizado	48
Figura 19 – Representação da montagem do leito na coluna de extração.....	50
Figura 20 – Rotaevaporador utilizado na eliminação do solvente sob pressão negativa	50
Figura 21 – Equipamento para análise microscopia eletrônica de varredura (MEV)	53
Figura 22 – Curvas de extração cinética com CO ₂ supercrítico à 40 °C e 11 ± 2 g·min ⁻¹ de CO ₂ a 20 MPa (A) e 30 MPa (B).....	57
Figura 23 - Rendimentos globais (X ₀) para os extratos de <i>S. rhombifolia</i> utilizando etanol como cossolvente a 20 MPa, 40 e 50 °C e vazão de 11 ± 2 g min ⁻¹	61
Figura 24 - Rendimentos globais (X ₀) para os extratos de <i>S. rhombifolia</i> utilizando etanol como cossolvente a 30 MPa, 40 e 50 °C e vazão de 11 ± 2 g min ⁻¹	62
Figura 25 - Curva de extração cinética em PLE a 10 MPa, 40, 60 e 80 °C e 2 mL·min ⁻¹ de EtOH	63

Figura 26 – Concentração de soluto nos extratos da cinética em PLE antes da recuperação do solvente.....	64
Figura 27 – Conteúdo de fenólicos totais (A) e Conteúdo de Flavonoides (B) nos extratos obtidos pela integração de processos.....	70
Figura 28 - Imagens MEV de <i>S. rhombifolia</i> com uma ampliação de 1000x: (A) matéria-prima original; (B) após a extração de Soxhlet; (C) após fluxo lento de despressurização de ESC; e (D) após fluxo rápido de despressurização ESC.	74
Figura 29 – Compostos fenólicos de maior abundância nos extratos de <i>S. rhombifolia</i> obtidos por diferentes extrações.....	78
Figura 30 – Estruturas químicas dos compostos fenólicos destacados nos extratos de <i>S. rhombifolia</i>	79
Figura 31 – Aparato experimental da PLE em escala ampliada.....	97
Figura 32 - Diagrama ilustrativo da unidade PLE ampliada	98
Figura 33 - Representação da montagem do leito de extração	99
Figura 34 – Curvas de extração cinética com PLE em escala pequena e em escala ampliada a 10 MPa, 80 °C e solvente EtOH/H ₂ O (70:30)	102
Figura 35 - Concentração de soluto nas cinéticas: pequena escala (A) e escala ampliada (B) em PLE antes da recuperação do solvente	103
Figura 36 – Comparativo entre cinéticas com base no rendimento para extratos de <i>S. rhombifolia</i> via PLE	104
Figura 37 – Curvas cinéticas obtidas pela modelagem matemática para micro escala	109
Figura 38 – Curvas cinéticas obtidas por modelagem matemática para escala ampliada	110
Figura 39 – Compostos com atividade antioxidante por grama de extrato de <i>S. rhombifolia</i> no processo de escalonamento.....	112
Figura 40 – Ilustração das diferentes possíveis morfologias das microcápsulas.....	119
Figura 41 – Estrutura química da maltodextrina	121
Figura 42 - Diagrama esquemático da secagem por atomização e fatores que afetam a qualidade do produto.....	123
Figura 43 - Representação gráfica do ângulo de matiz e do croma no espaço de cores do CIELAB.....	126
Figura 44 - Paleta de emissão de fluorescência máxima de fluorocromos de ocorrência natural em plantas.....	128

Figura 45 – Diagrama ilustrativo do <i>spray-dry</i> para formação de microencapsulados.....	129
Figura 46 - Valores de colorimetria realizada comparando as partículas microencapsuladas <i>spray-drying</i> quanto aos parâmetros de cor L^* , a^* e b^*	138
Figura 47 – Micrografia da MD (a) e dos materiais encapsulados em <i>Spray-dryer</i> , MSD (b), ME 2,5 (c) e ME 5,0 (d)	140
Figura 48 – Micrografias de Fluorescência do extrato de <i>S. rhombifolia</i> (A) e das microcápsulas MSD (B), ME 2,5 (C) e ME 5,0 (D)	141
Figura 49 – Micrografias de fluorescência de ME 5,0 em diferentes comprimentos de onda, plano claro (A), 700-620 nm (B), 560-500 nm (C) e 480-400 nm (D)	143
Figura 50 - Curvas cinéticas de adsorção de umidade de MSD (A), ME2,5 (B) e ME5,0 (C) e distribuição de resíduos para UR 11 % (D).....	145
Figura 51 – Alterações na energia livre de Gibbs em função do teor de umidade das microcápsulas	147
Figura 52 – Isotermas de adsorção de umidade: (A) ajuste matemático do modelo de GAB; (B) ajuste matemático do modelo de BET	148
Figura 53 – Frascos utilizados na avaliação CRA apresentando solubilização das amostras	150
Figura 54 - Espectros de infravermelho para os materiais e microcápsulas.....	152
Figura 55 – Curvas TG do extrato de <i>S. rhombifolia</i> , MD, MSD, ME 2,5 e ME 5,0	153
Figura 56 - Curvas DTG para MD (A), MSD (B), ME2,5 (C), ME5,0 (D) e Extrato (E)	154
Figura 57 – Curvas de DSC normalizadas por meio da linha base	155
Figura 58 - Curvas DDSC dos materiais MD (A), MSD (B), ME2,5 (C), ME5,0 (D) e Extrato (E).....	157
Figura 59 - Curva analítica de ácido gálico utilizada no cálculo de CFT dos extratos de <i>S. rhombifolia</i> do Capítulo III.	183
Figura 60 - Distribuição de diâmetros das partículas obtidas por microencapsulação.....	185
Figura 61 - Partículas numeradas por meio da análise dimensional em software Image-J®.	185
Figura 62 - Resíduos do ajuste do modelo de GAB às isotermas de adsorção umidade.....	186
Figura 63 - Resíduos do ajuste do modelo de BET às isotermas de adsorção umidade.....	187

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento global de extração por Soxhlet e Ultrassom	56
Tabela 2 – Caracterização do leito de extração de <i>S. rhombifolia</i>	57
Tabela 3 – Parâmetros cinéticos de extração de <i>S. rhombifolia</i> com fluido supercrítico nas condições de 40 °C, vazão de CO ₂ 11 ± 2 g min ⁻¹ , 20 MPa (A) e 40 °C, vazão de CO ₂ 11 ± 2 g min ⁻¹ 30 MPa (B).....	59
Tabela 4 – Rendimentos globais (X ₀) obtidos por extração supercrítica de <i>S. rhombifolia</i> em diferentes condições de temperatura (T) e pressão (P).....	60
Tabela 5 – Rendimentos de extração (X ₀) de <i>S. rhombifolia</i> obtidos via PLE	64
Tabela 6 – Rendimentos de extração (X ₀) em PLE pela integração de processos	65
Tabela 7 – Teor de fenólicos e flavonoides totais dos extratos de <i>S. rhombifolia</i>	66
Tabela 8 – Teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais para os extratos obtidos no método com líquido pressurizado.....	67
Tabela 9 – CFT e TF dos extratos de <i>S. rhombifolia</i> obtidos por diferentes técnicas de extração	69
Tabela 10 – Atividade antioxidante dos extratos de <i>S. rhombifolia</i>	71
Tabela 11 – Atividade antioxidante por DPPH e ABTS para os extratos obtidos por PLE.....	72
Tabela 12 - Atividade antioxidante por DPPH e ABTS para os extratos obtidos na integração de processos.....	73
Tabela 13 – Perfil fenólico dos extratos de <i>S. rhombifolia</i> (mg·g ⁻¹ de amostra) obtidos por diferentes técnicas de extração.	76
Tabela 14 – Rendimento global de extração no escalonamento de PLE.....	105
Tabela 15 – Dados experimentais para escalonamento de extração.....	107
Tabela 16 - Parâmetros ajustáveis e erros quadráticos dos modelos matemáticos.....	107
Tabela 17 – Principais características do processo <i>Spray-drying</i>	122
Tabela 18 – Soluções saturadas de sais e suas respectivas umidades relativas à 25 °C	132
Tabela 19 - Parâmetros de Cor L*, a*, b* e Variação Total de Cor (ΔE) dos materiais	137
Tabela 20 – Coeficientes de ajuste e parâmetros estimados pelo modelo de Peleg	146
Tabela 21 – Parâmetros de ajuste dos modelos de GAB e BET para as microcápsulas com e sem extrato de <i>S. rhombifolia</i>	149

LISTA DE ABREVIACÕES E NOMENCLATURAS

Abs = Absorbância
ABTS = ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6- sulfônico)
ANOVA = Análise de variância
BHT = 2,6-diterc-butil-p-creso (inglês: *butylated hydroxyanisole*)
BIC = Células intactas e quebradas (Inglês: *Broken and Intact Cell*)
CER = Etapa constante de extração
CFT = Compostos fenólicos totais
CGE = Curva global de extração
CO₂ = Dioxide de carbono
DC = Difusão
DPPH = 1,1-difenil-2-picrilidrazina
EC₅₀ = Concentração das amostras necessária para captar 50 % do radical livre
ELP – Extração com Líquido Pressurizado
EQ = Equivalente de Quercetina
EQM = Erro quadrático médio
ESC = Extração supercrítica
ESC DL = Despressurização lenta na extração supercrítica
ESC DR = Despressurização rápida na extração supercrítica
ESI-MS/MS = Fonte de Ionização
EtOH = Etanol
FER = Etapa de extração decrescente
FLOR = Herbário da Universidade Federal de Santa Catarina
GAE = Equivalente ácido gálico
GRAS = Reconhecido como Solvente Seguro (Inglês: *General Recognized as Safe Solvent*)
H₂O = Água
HEX = Hexano
HPLC = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Inglês: *High Performance Liquid Chromatography*)
J(X,Y) = Fluxo de transferência de massa interfacial
LATESC = Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica
MEV = Microscopia eletrônica de varredura
MRM = Monitoramento de Reações Múltiplas
pH = Potencial Hidrogeniônico
QCO₂ = vazão de CO₂
SC = Santa Catarina
SOX = Soxhlet
tCER = Tempo da etapa CER
TEAC = Equivalente em Trolox para capacidade antioxidante (Inglês: *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*)
tFER = Tempo da etapa FER
FT = Compostos Flavonoides
UFSC = Universidade Federal de Santa Catarina
US = Ultrassom
UV-Vis = Ultravioleta-visível
YCER = Concentração do soluto na fase solvente na etapa CER

LISTA DE SÍMBOLOS

< LOQ = Não quantificado
a* = Coordenada vermelho-verde na escala CIELab
Abs = Absorbância
Ai = Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003)
Aw = Atividade de água
b = Parâmetro ajustável do modelo de Esquível et al. (1999)
b* = Coordenada amarelo-azul na escala CIELab
bi = Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003)
C = Parâmetro ajustável do modelo de GAB e do modelo de BET
C* = Cromacidade
d = Diâmetro do leito extrator
dp = Diâmetro de partícula
ε = Porosidade
F = Massa do material sólido para o modelo de Esquível (1999)
H = Altura do leito
h° = Ângulo de matiz
k1 = Coeficiente de ajuste do modelo de Peleg
k2 = Coeficiente de ajuste do modelo de Peleg
k = Parâmetro ajustável do modelo de GAB
K = Massa de soluto inacessível dentro da fase sólida partículas
Kf = Coeficiente de transferência de massa para a fase de fluida
Ks = Coeficiente de transferência de massa do soluto na fase sólida
kXa = Coeficiente de transferência de massa na fase sólida
kYa = Coeficiente de transferência de massa na fase fluida
L* = Luminosidade
m₀ = Massa inicial de soluto
mam = Massa de amostra
mesf vidro = Massa de esferas de vidro
mext = Massa de extrato
mf = Massa final de amostra
mi = Massa inicial de amostra
N = Massa de sólido inerte
nd = Não detectado
O = Massa do soluto contido inicialmente na fase sólida
P = Massa de soluto facilmente acessível (para modelo de Sovová (1994))
P = Pressão
pH = Potencial Hidrogeniônico
R = Raio do leito
R² = Coeficiente de correlação por erro quadrático
S = Área da seção transversal
Si = Função relativa a solubilidade do componente i
T = Temperatura
tCER = Tempo da etapa CER
tFER = Tempo da etapa FER
tmi = Parâmetro ajustável do modelo de Martínez et al. (2003)

u = Vazão mássica do solvente de alimentação
 U = Velocidade superficial do solvente
 V = Vazão do solvente de alimentação
 W_i = Transparência
 X (EtOH) = Fração do solvente de alimentação
 X (H₂O) = Fração do solvente de alimentação
 X_0 = Rendimento global
 X_{eq} = Umidades de equilíbrio
 x_k = Massa inicial de material extraível em células intactas
 x_p = Massa inicial de material não extraível em células intactas
 $Y\%$ = eficiência de encapsulação
 Y^* = Solubilidade do extrato na fase solvente
 Y_i = Índices de amarelecimento
 ΔE = Diferença total de cor
 ΔG = Energia de Gibbs
 ΔH = Variação de Entalpia
 ΔL = Energia livre
 ΔS = Variação de Entropia
 ρ amostra = Densidade da amostra
 ρ esf. vidro = Densidade das esferas de vidro
 ρ EtOH+H₂O = Densidade da mistura de solventes de alimentação
 ρ_a = Massa específica aparente
 ρ_{CO_2} = Massa específica do CO₂
 ρ_r = Massa específica real

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	21
1 INTRODUÇÃO	22
1.1 OBJETIVOS	24
1.1.1 Objetivo Geral	24
1.1.2 Objetivos Específicos.....	24
CAPÍTULO II	25
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
1.2 FAMÍLIA MALVACEAE.....	26
1.2.1 Importância socioeconômica da família Malvaceae.....	26
1.2.2 Gênero <i>Sida</i>	27
1.2.3 Guanxuma (<i>Sida rhombifolia L.</i>).....	28
1.3 OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS	29
1.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	31
1.4.1 Compostos fenólicos	31
1.4.2 Métodos de avaliação quantitativa	31
1.4.3 Teor de Flavonoides	34
2 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DO ESTADO DA ARTE	35
CAPÍTULO III	37
1 INTRODUÇÃO	28
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
2.1 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO À BAIXA PRESSÃO.....	30
2.1.1 Soxhlet	30
2.1.2 Ultrassom.....	31
2.2 MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO À ALTA PRESSÃO	32
2.2.1 Extração Supercrítica (ESC)	32
2.2.1.1 Procedimento de Extração	34
2.2.2 Extração com Líquido Pressurizado (PLE)	36
3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 AMOSTRAS	39
3.1.1 <i>S. rhombifolia L.</i>	39

3.1.2	Determinação do teor de umidade e voláteis	39
3.1.3	Determinação do tamanho médio de partícula.....	40
3.1.4	Determinação da massa específica real	40
3.1.5	Caracterização do leito de partículas	41
3.2	EXTRAÇÕES A BAIXAS PRESSÃO.....	41
3.2.1	Extração Soxhlet.....	41
3.2.2	Extração com Ultrassom.....	42
3.3	EXTRAÇÕES NÃO CONVENCIONAIS A ALTAS PRESSÕES	42
3.3.1	Extração Supercrítica	42
3.3.1.1	Unidade de Extração Supercrítica	42
3.3.1.2	Determinação da Cinética de Extração.....	44
3.3.1.3	Procedimento Experimental	45
3.3.1.4	Determinação do Rendimento de Extração	45
3.3.1.5	Uso de cossolvente	46
3.3.2	Extração com Líquido Pressurizado	47
3.3.2.1	Unidade de Extração com Líquido Pressurizado.....	47
3.3.2.2	Determinação da Cinética de Extração.....	48
3.3.2.3	Procedimento experimental	49
3.3.2.4	Determinação do Rendimento de Extração	49
3.4	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	51
3.4.1	Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)	51
3.4.2	Método do radical DPPH.....	52
3.4.3	Método do radical ABTS	52
3.4.4	Determinação de flavonoides totais (FT)	52
3.5	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	53
3.6	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR HPLC-ESI-MS/MS SERIES (AGILENT® TECHNOLOGIES, ALEMANHA).....	54
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	55
4.1	DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO (X₀).....	55
4.1.1	Métodos Convencionais de Extração.....	55
4.1.1.1	Soxhlet (SOX) e Ultrassom (US)	55

4.1.2	Extração Supercrítica	57
4.1.2.1	Caracterização do Leito de Extração	57
4.1.2.2	Determinação da Cinética de Extração	57
4.1.2.3	Determinação do Rendimento da Extração	59
4.1.2.4	Uso de cossolvente	60
4.1.3	Extração com Líquido Pressurizado	62
4.1.3.1	Determinação da Cinética de Extração	63
4.1.3.2	Determinação do Rendimento da Extração	64
4.2	TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS	66
4.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	70
4.4	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	73
4.5	ANÁLISE HPLC-ESI-MS/MS	75
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
CAPÍTULO IV		83
1	INTRODUÇÃO	84
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	85
2.1	AMPLIAÇÃO DE ESCALA	85
2.2	MODELAGEM MATEMÁTICA	87
2.2.1	Modelo de Sovová	88
2.2.2	Modelo de Martínez	94
2.2.3	Modelo de Esquível	96
3	MATERIAL E MÉTODOS	97
3.1	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO	97
3.1.1	Aparato de PLE Ampliada	97
3.1.2	Determinação da Cinética de Extração	98
3.1.3	Procedimento experimental para ampliação de escala	99
3.1.4	Caraterização do Leito de Partículas	100
3.2	VALIDAÇÃO POR MEIO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	100
3.3	MODELAGEM	101
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	102
4.1	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO	102
4.1.1	Determinação da Cinética de Extração	102

4.1.2	Determinação do Rendimento de Extração	104
4.2	MODELAGEM MATEMÁTICA	106
4.2.1	Dados experimentais e parâmetros ajustáveis.....	106
4.2.2	Curvas cinéticas e ajustes aos modelos matemáticos	109
4.3	COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	111
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115
CAPÍTULO V		116
1	INTRODUÇÃO	117
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	118
2.1	PROCESSOS DE ENCAPSULAÇÃO	118
2.2	AGENTE ENCAPSULANTE.....	120
2.3	ENCAPSULAÇÃO POR <i>SPRAY-DRY</i>	122
2.4	CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL ENCAPSULADO	125
2.4.1	Colorimetria.....	125
2.4.2	Microscopias de Fluorescência.....	127
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	129
3.1	OBTENÇÃO DAS CÁPSULAS	129
3.4	CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS.....	130
3.4.1	Caracterização colorimétrica das microcápsulas.....	130
3.4.2	Morfologia e tamanho das microcápsulas.....	131
3.4.3	Microscopia de fluorescência	131
3.4.4	Cinéticas de Adsorção de Umidade	131
3.4.5	Isotermas de adsorção de Umidade	133
3.4.6	Capacidade de Retenção de Água (CRA) e óleo (CRO)	134
3.4.7	Caracterização de grupos funcionais por infravermelho (FTIR).....	134
3.4.8	Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	135
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	135
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	136
4.1	CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCÁPSULAS.....	137
4.1.1	Determinação dos parâmetros de cor.....	137
4.1.2	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	139
4.1.3	Microscopia de Fluorescência	141

4.1.4	Cinéticas de Adsorção de Umidade	144
4.1.5	Isotermas de Adsorção de Umidade	148
4.1.6	Capacidade Retenção de Água (CRA) e Capacidade de Retenção de Óleo (CRO) 150	
4.1.7	Grupos funcionais por infravermelho (FTIR).....	151
4.1.8	Análises térmicas	153
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	159
	CAPÍTULO VI.....	161
1	CONCLUSÕES GERAIS.....	162
2	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	164
3	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	165
	APÊNDICE A – CURVA DE ÁCIDO GÁLICO PARA ANÁLISE DE CFT	183
	APÊNDICE B – TABELA SUPLEMENTAR DA ANÁLISE HPLC.....	184
	APÊNDICE C – ANÁLISE DIMENSIONAL DE PARTÍCULAS OBTIDAS POR <i>SPRAY-DRYING</i>	185
	APÊNDICE D – AJUSTE AOS MODELOS MATEMÁTICOS NA AFERIÇÃO DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO.....	186
	APÊNDICE E – ARTIGO PUBLICADO	188

DIAGRAMA CONCEITUAL

Por quê?

- Guanxuma (*Sida rhombifolia*) é utilizada na medicina popular com diversas finalidades, incorporada tradicionalmente no chimarrão, bebida típica do Rio Grande do Sul/Brasil.
- É abundante em todo hemisfério sul, de fácil propagação.
- Proporcionar através de estudos a disseminação de uma fonte natural com potencial em função de seus compostos bioativos.

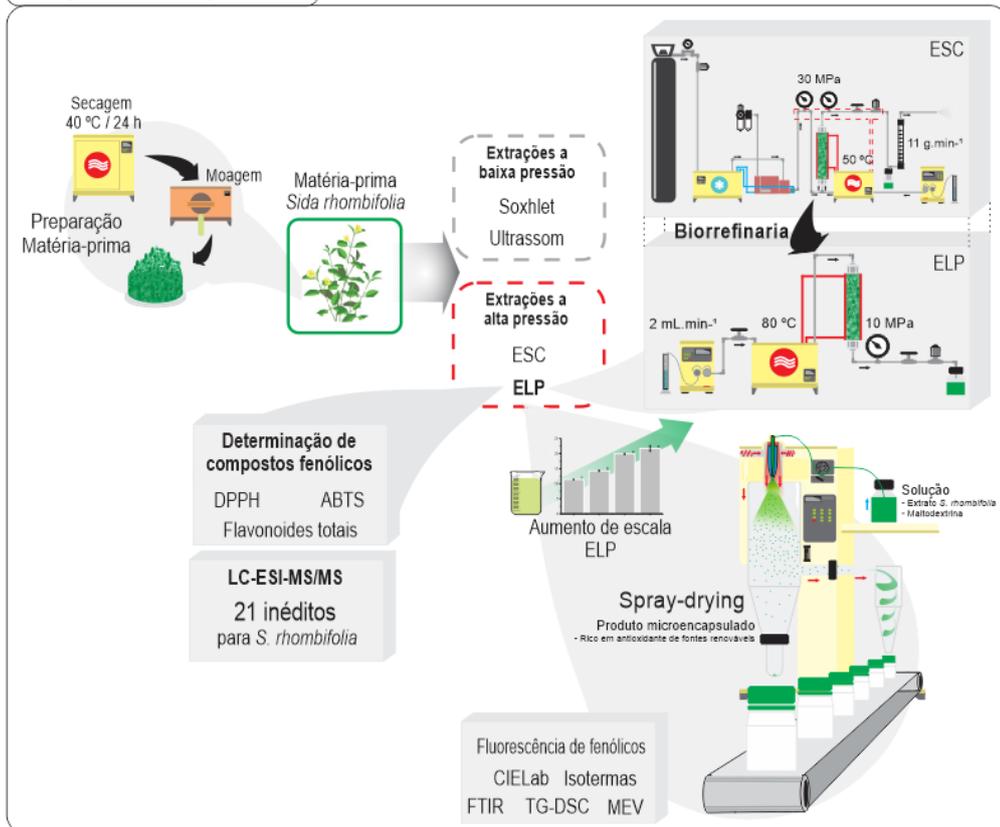
O que consta na literatura?

- Alguns trabalhos que avaliam sua composição e atividades biológicas;
- Nas pesquisas realizadas observou-se que não constam na literatura o emprego de CO₂ supercrítico para obtenção de extratos, tão pouco demais técnicas não convencionais de extração.
- Não foi encontrado na literatura trabalhos que façam a integração de processos com essa matéria-prima, ampliação de escala de extração e microencapsulação do extrato.

Hipóteses?

- É possível recuperar compostos bioativos da Guanxuma?
- É possível a encapsulação dos extratos obtidos a alta pressão?

Principais métodos experimentais



Respostas?

- Selecionar o método mais eficiente para obtenção de compostos fenólicos de *S. rhombifolia*.
- Microencapsular por *spray-drying* o extrato obtido através dos métodos a alta pressão.
- Caracterizar as microcápsulas quanto à morfologia, adsorção de umidade, grupos funcionais, propriedades térmicas e físico-químicas.



CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1 INTRODUÇÃO

Tendo em vista a crescente demanda por alimentos com menor intervenção de aditivos sintéticos e que estes promovam benefícios à saúde do consumidor, urge a necessidade de desenvolvimento e aplicação de novas tecnologias no preparo de tais produtos. Neste sentido, tanto no desenvolvimento quanto no aprimoramento destes novos produtos, deve-se considerar, além da segurança, as demandas atuais sob o ponto de vista ambiental e aspectos nutricionais no que tange o interesse por prevenção e manutenção da saúde.

A cadeia produtiva de alimentos, alvo de críticas, principalmente quanto às grandes quantidades de aditivos sintéticos incorporados nos produtos de consumo, expõe a demanda por alternativas viáveis para formulação e processamento de alimentos. Mediante esse cenário, viabilizar alternativas que correspondam aos anseios industriais, e atendam ao aspecto sustentável e de qualidade, tem sido assunto de grande interesse, destacando as investigações quanto aos antioxidantes naturais.

Antioxidantes naturais são compostos que têm expressiva importância no cenário industrial alimentício e farmacêutico. Técnicas que permitam sua recuperação de matérias-primas naturais e renováveis para incorporação nestes setores da indústria, têm impulsionado a pesquisa e o desenvolvimento, principalmente no que se refere às metodologias de obtenção de compostos mediante maior seletividade e qualidade.

A obtenção de compostos bioativos é possível por diversas técnicas, as quais são divididas em dois grandes grupos: convencionais e não convencionais. As técnicas convencionais apresentam, como principais vantagens, o baixo custo de aplicação e a facilidade operacional. No entanto, normalmente apresentam elevado tempo de operação e a utilização de solventes orgânicos danosos ao meio ambiente. De modo a contornar essas desvantagens e obter-se alternativas viáveis, as técnicas não convencionais surgem como processos ambientalmente amigáveis para a obtenção de compostos mais puros e seguros.

Sida rhombifolia, conhecida popularmente no Brasil como Guanxuma, é uma planta semi-arbustiva, perene, de ampla ocorrência em terrenos baldios e plantações, considerada uma erva-daninha, visto sua facilidade em desenvolver-se nos diferentes tipos de solos. Atribui-se à esta, ações benéficas à saúde, com consumo reportado pela medicina popular, na preparação de chás ou incorporada à outras bebidas, como por exemplo o chimarrão, famoso e difundido principalmente na região sul do Brasil.

Os métodos de extração com emprego de altas pressões, caracterizam-se pela eficiência na obtenção seletiva de compostos de interesse. Os parâmetros aplicados nestes métodos podem

exercer influência na composição do extrato obtido. Dessa forma, o estudo acerca dos diferentes processos de extração, bem como a integração de técnicas, numa abordagem de biorrefinaria, pode corresponder a recuperação dos compostos bioativos presentes em *S. rhombifolia* cuja ação vem sendo reportada tradicionalmente através do senso comum.

Os benefícios reportados à esta matriz vegetal, sugere a adequação da técnica a alta pressão para escalonamento de extração. Permitir a disponibilização de compostos bioativos de interesse com fonte alternativa, representa claras vantagens em termos de aplicação de tecnologias verdes, bem como de contribuição ao setor industrial alimentício e farmacológico. Desse modo, estudar e viabilizar maiores informações pertinentes ao aumento de escala de extração, torna possível estreitar ensaios em módulos laboratoriais para aplicações industriais.

O método de extrações em termos de processamento verde a alta pressão em aumento de escala, sugere a investigação de alternativa para a manutenção da estabilidade dos compostos obtidos. Nesse contexto, tem-se na técnica de microencapsulação por spray-dry a possibilidade de proporcionar a necessária manutenção da qualidade do extrato com alto potencial antioxidante. Já difundido no setor de alimentos, o spray-drying é uma operação unitária de secagem que permite a formação de cápsulas, método este que representa estreitar o processo de implantação industrial.

Dessa forma, o presente estudo propõe obter extratos de *S. rhombifolia* em baixa e altas pressões, permitindo a análise comparativa entre os mesmos. Promover e otimizar a utilização de solventes ambientalmente seguros para obtenção de compostos de interesse, evidenciando a importância em agregar conhecimento de modo a minimizar impactos ambientais, mas também prover alternativas de matriz vegetal, as quais são amplamente disponíveis em benefício da saúde do homem. Nesse sentido, estudar o escalonamento da técnica a alta pressão com melhores resultados em termos de rendimento e composição demonstra ser necessário para disponibilizar informações pertinentes à aplicação industrial. Do mesmo modo, avaliar a microencapsulação em spray-dry permite aliar baixo custo e produção contínua, bem como ampliar as possibilidades para aplicação industrial pela incorporação na formulação de alimentos com estabilização dos compostos de potencial antioxidante.

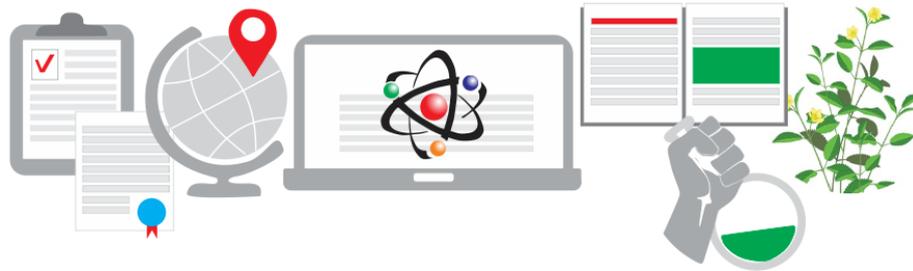
1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Extrair por meio de métodos convencionais e não convencionais, a baixa e alta pressão e com uso de solvente ambientalmente seguros, compostos bioativos presentes em *S. rhombifolia* L. e microencapsular em *spray-dryer*.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a. Obter extratos da porção aérea de *S. rhombifolia* por meio das técnicas soxhlet e ultrassom, e avaliação em termos de rendimento global;
- b. Obter extratos da porção aérea de *S. rhombifolia* por extração supercrítica, com uso de etanol como cossolvente e, identificar a melhor condição de pressão e temperatura, em termos de rendimento global, selecionando-a para testes posteriores;
- c. Obter extratos da porção aérea de *S. rhombifolia* via extração por líquido pressurizado e avalia-los em termos de rendimento global, traçando um comparativo entre todas as técnicas utilizadas;
- d. Avaliar a integração de processos para maximizar a recuperação de compostos de interesse da matriz vegetal;
- e. Avaliar a atividade antioxidante dos extratos de *S. rhombifolia* por meio de técnicas in vitro: Compostos Fenólicos Totais (CFT), Teor de Flavonoides Totais (FT), captura do radical DPPH e captura do radical ABTS;
- f. Avaliar os extratos obtidos no que diz respeito à composição química por meio do HPLC-ESI-MS/MS;
- g. Validar processo de escalonamento de extração para método de melhores características avaliadas e modelar matematicamente os dados experimentais;
- h. Encapsular o extrato e caracterizar as cápsulas obtidas pela técnica de spray drying, por isoterma de adsorção de umidade, colorimetria, Microscopia de Fluorescência e MEV, CRA/CRO, TG-DSC e FTIR.



CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

S. rhombifolia L

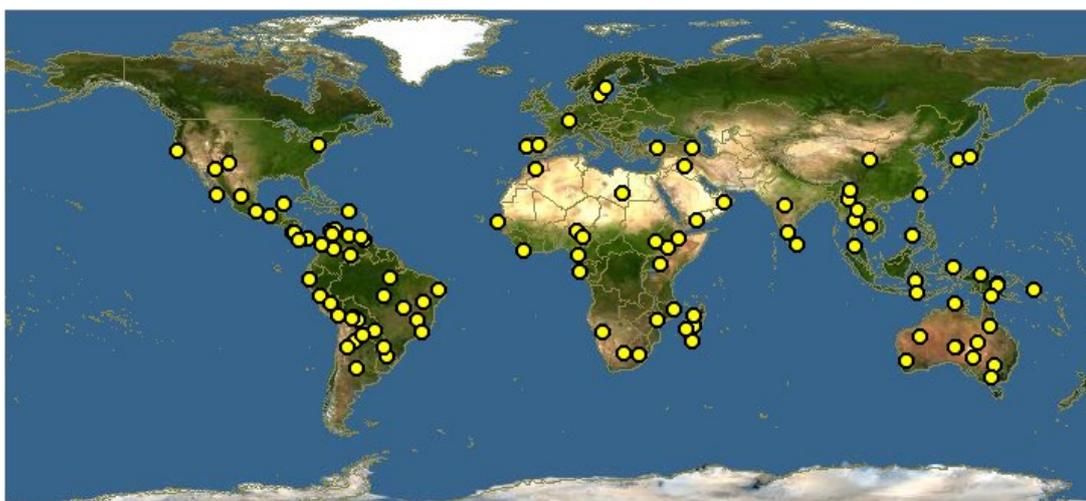
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2 FAMÍLIA MALVACEAE

1.2.1 Importância socioeconômica da família Malvaceae

A família Malvaceae possui distribuição predominantemente pantropical, incluindo cerca de 250 gêneros e 4.200 espécies. No Brasil, ocorrem cerca de 80 gêneros e 400 espécies. A família Malvaceae é uma valiosa fonte de fibras, alimentos, bebidas, fármacos, madeira e paisagismo. Dentre as espécies florestais nativas do Brasil, destacam-se os gêneros como *Ceiba* (paineira e sumaúma) e *Theobroma* (cacau e cupuaçu) (CARVALHO; GAIAD, 2015).

Figura 1 – Representação da distribuição da família Malvaceae no mundo



Fonte: DiscoverLife, 2017

Indivíduos dessa família possuem relevância socioeconômica, compondo as principais culturas para obtenção de fibras do mundo. Dentre elas a cultura mais importante é do algodão, obtido a partir de quatro espécies de *Gossypium*, com produção anualmente de cerca de 20 milhões de toneladas e também destacam-se a kenaf e a juta como fibras de representativo valor econômico, com produções da ordem de 1 e 2 milhões de toneladas anuais, respectivamente.

Além da obtenção de fibras, as plantas da família Malvaceae também são usadas para alimentos, bebidas, madeira, na medicina tradicional e na horticultura (HINSELY RS, 2008). O setor alimentício também tem grande contribuição de plantas pertencentes à esta família. O quiabo (*Abelmoschus esculentus*), planta arbustiva originária da África e introduzida no Brasil

através dos escravos, sendo uma hortaliça de baixo custo de produção, muito popular e presente em todos mercados. Outro exemplo é o Cacau (*Theobroma cacao*), planta originária da floresta tropical americana, amplamente utilizada para compor a base de chocolates.

Há também dentro dessa família as plantas consideradas popularmente como daninhas ou invasoras. Espécies do gênero *Sida* são de ocorrência comum, principalmente em terrenos baldios e plantações, sendo importante seu reconhecimento de modo a promover seu controle e assim evitar prejuízos à economia agrícola. No entanto, essas plantas podem representar influência econômica no que se refere à sua utilização como alimento, medicinal, ornamental ou ainda forrageira (BRANDÃO FERREIRA; MACEDO; LACA BUENDIA, 1984). Inúmeras espécies da família Malvaceae são amplamente utilizadas em todas as partes do mundo como plantas ornamentais, matérias-primas na indústria de bens de consumo e para fins medicinais (BOVINI; VIEIRA, 2001; OTERO et al., 2000).

1.2.2 Gênero *Sida*

Sida é um gênero botânico inserido na família Malvaceae, pertencente à ordem Malvales (LOURENÇO BRANDÃO et al., 2017). No Brasil, tem sua predominância nas regiões Nordeste e Sul e, em menor proporção, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (SILVA et al., 2006). Plantas do gênero *Sida* são ervas anuais ou perenes, eretas, com folhas geralmente indivisíveis, serrilhadas, flores pequenas com cores amareladas e sementes em forma triangular (FRYXELL, 2014; LOURENÇO BRANDÃO et al., 2017).

As espécies pertencentes a este gênero são as mais polimórficas de toda a família, apesar disso, apresentam algumas características importantes para sua identificação como a presença de folhas pubescentes, com tricomas estrelado em ambas as faces, e ainda, suas folhas são serrilhadas na porção distal e inteiras na porção proximal (BOVINI; VIEIRA, 2001; RONDÓN, 2009). Essa diversidade polimórfica pode também ser reflexo das condições ambientais as quais as plantas são submetidas, tendo em vista a ampla área onde os exemplares deste gênero são encontrados.

Algumas espécies dentro do gênero *Sida*, como por exemplo, *Sida acuta*, *Sida cordifolia*, *Sida rhombifolia*, *Sida spinosa* e *Sida veronicae* são amplamente utilizadas como medicamentos de culturas tradicionais de povos indianos, chineses, americanos e africanos. Compostos isolados dessas plantas, mediante seus extratos apresentaram atividades antimicrobiana, antiinflamatória e analgésica, hepatoprotetora, antiulcerogênica, citotóxica, cardioprotetora, neuroprotetora, antituberculose, antioxidante, nefroprotetora, antidiabética e

antiobesidade, abortivas, antipiréticas (AJITHA BAI et al., 2012; KUMAR et al., 2013; SRINITHYA B, 2014).

1.2.3 Guanxuma (*Sida rhombifolia* L.)

Sida rhombifolia, também descrita pelo nome científico *Sida rhomboidea* (PLANTS OF THE WORLD ONLINE, 2017), no Brasil é popularmente conhecida como guanxuma ou guaxuma, vassourinha e relógio, nome que remete à pontualidade com que as flores se abrem e se fecham diariamente (KISSMANN; GROTH, 2000; LORENZI; MATOS, 2008). Trata-se de uma planta herbácea ou subarborescente, anual ou perene, ereta, fibrosa, pouco ramificada, de 30 a 80 cm de altura, nativa do continente americano e amplamente encontrada em todo o território brasileiro. Ocorrem no país também outras espécies deste gênero e gêneros afins com características e propriedades semelhantes, das quais destaca-se *S. cordifolia* e *S. acuta* Burm. F. (LORENZI; MATOS, 2008).

S. rhombifolia é nativa do continente americano, mais presente na América do Sul e no Brasil é mais pronunciada na região sul (LORENZI; MATOS, 2008). Sua ocorrência é espontânea e com grande vigor em solos cultivados com lavouras anuais e perenes, beira de estradas e terrenos em todo o país, sendo considerada séria planta daninha na agricultura. Apresenta folhas simples, pecíolos, membranáceas, medindo de 1 a 3 cm de comprimento e flores amarelas, solitárias ou em pequenos grupos, axilares, que se abrem somente pela manhã, conforme ilustração a imagem da Figura 2.

Figura 2 – Imagem do exemplar de *Sida rhombifolia* L.



A planta é amplamente empregada na medicina caseira em todo o país e até no exterior, sendo declarada não tóxica mesmo em administração aguda (OUÉDRAOGO P.; KONATÉ, K.; BARRO, N.; SAWADOGO, L.L., 2013). Sua utilização ocorre em todo território nacional e ainda vem sendo feita com base na tradição popular (SIMÕES et al., 2004; VENDRUSCOLO; MENTZ, 2006). Nesse sentido, a etnofarmacologia, tem fundamental importância como ferramenta para a contribuição ao direcionamento das investigações científicas, as quais podem levar a comprovação da atividade farmacológica definida pela medicina popular (FERREIRA; PINTO, 2010).

As raízes e folhas de guanxuma em forma de chás são usadas na Índia como tônico, para cura de febres e inflamações, além de outras finalidades que incluem o tratamento de diversas doenças do sistema cardiovascular, combate ao colesterol, hipertensão e ação diurética (THOUNAOJAM et al., 2011; VENKATESH et al., 1999; LOPES, 1997). Em estudo desenvolvido por Vendrusculo e Mentz (2006), é reportado o uso de infusões de raízes e sementes como agente emagrecedor e fortalecedor de couro cabeludo. As folhas são muito valorizadas devido ao gosto agradável que propicia no uso de infusões ou chás. Folhas maceradas quando utilizadas externamente são emolientes, as quais são aplicadas topicamente como solução de urgência no campo, para aliviar dores ocasionadas por picadas de insetos (LORENZI; MATOS, 2008).

Conforme relatado por Pinheiro (2016), mediante a análise de composição de ácidos graxos de *S. rhombifolia*, foi possível identificar um percentual de 87,36% de ácidos graxos presentes nas partes aéreas, sendo ácido palmítico (27,97%), ácido linolênico (26,81%) e oleico (25,09%) os majoritários.

Tendo em vista todos os benefícios atribuídos ao uso da guanxuma, a análise de composição química é de suma importância, de modo a identificar princípios ativos e sua distribuição nas distintas partes da planta. Neste sentido, são relatadas presenças de três tipos de alcaloides, especialmente criptolepina e vascina, além de efedrina nas raízes, enquanto na parte aérea estão presentes oito tipos de esteroides, saponinas e mucilagem, como componentes mais abundantes (ROBINEAU, 1995).

1.3 OBTENÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A obtenção e posterior avaliação de compostos bioativos de plantas, deve ser precedida de etapas que consistem na preparação da matéria-prima, de modo a obter confiabilidade e maximizar os resultados. A primeira das etapas desse processo consiste na padronização do

material, em termos de granulometria e teor de umidade. No que se refere à obtenção de extratos concentrados de compostos de interesse, o processo é descrito como uma operação unitária que tem por objetivo a separação de determinadas substâncias a partir de diversas matrizes, sólidas ou líquidas, por processos químicos, físicos ou mecânicos (EGGERS; JAEGER, 2003).

Nos processos de extração alguns aspectos devem ser considerados, como: a escolha do solvente, a temperatura e a ação mecânica (agitação e pressão). Ainda influenciada pela estrutura molecular do soluto, o tamanho, localização e a sua ligação com outros componentes da matriz, as extrações podem ser conduzidas de diferentes formas. Da mesma forma, as características químicas dos solventes, a estrutura e composição do produto natural fazem com que cada sistema material-solvente mostre comportamento particular, de difícil previsão. Os fenômenos de transferência de massa influenciam fortemente nos processos extrativos, onde, o solvente desempenha um papel importante na velocidade da dissolução e a agitação pode contribuir na diminuição do tempo de processo (SOARES et al., 1998; TSAO; DENG, 2004).

Nesse contexto, vale ressaltar as grandes diferenças conferidas pelos processos de extração não convencionais, como, extração com fluido supercrítico e subcrítico na obtenção de compostos naturais. Estes são métodos alternativos ainda pouco utilizados no Brasil, mas que podem representar novas possibilidades para as indústrias de alimentos, fármacos e cosméticos. Cada uma destas técnicas apresenta vantagens e desvantagens quando comparadas às convencionais, largamente empregadas tanto em técnicas laboratoriais quanto na produção em larga escala. Vale ressaltar que a escolha do método a ser utilizado deve levar em conta no mínimo três fatores principais: (i) obtenção de produto diferenciado do existente no mercado (qualidade, atividade biológica, composição química, estabilidade, ausência de traço de solvente, etc.), (ii) custo de manufatura mais vantajoso (maior rendimento, menor tempo, menor consumo de energia), e/ou (iii) redução no impacto ambiental.

Os procedimentos e resultados da obtenção de extratos, bem como, a avaliação dos mesmos deve ser seguida de testes biológicos, selecionados com base na sua suposta bioatividade. Os testes *in vitro* são rápidos e requerem pequenas quantidades de amostra e por isso são frequentemente utilizados. Uma vez verificada a atividade biológica, os compostos bioativos devem ser identificados e para isso existem diversos métodos cromatográficos. Após a identificação dos compostos presentes nos extratos, deve-se tentar correlacionar os compostos e sua funcionalidade (BRUSOTTI et al., 2014).

1.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

1.4.1 Compostos fenólicos

As estruturas vegetais são constituídas de diversos metabólitos gerados em resposta à várias condições que a planta é exposta, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos cuja estrutura lhes confere significativa atividade antioxidante (RAMACHANDRA RAO; RAVISHANKAR, 2002).

Os compostos fenólicos constituem um grupo substancial e importante de fenilpropanóides. As plantas sintetizam estes compostos como meio de defesa química contra predadores e propagação da espécie (VELDERRAIN-RODRÍGUEZ et al., 2014). Os fenólicos são compostos químicos que possuem pelo menos um anel aromático ao qual um ou mais grupos hidroxila estão ligados a estruturas aromáticas ou alifáticas (BRAVO, 2009). Compostos fenólicos podem ser classificados em diferentes grupos. Eles são agrupados em função do número de anéis fenólicos que contêm e dos radicais que ligam esses anéis a outro (MANACH; et al, 2005).

Os compostos fenólicos têm demonstrado ação na prevenção de doenças degenerativas crônicas, como diabetes, declínio cognitivo e doenças cardiovasculares, bem como diferentes tipos de câncer através da inibição de sua iniciação e progressão pela modulação de genes envolvidos em processos chave de regulação (ANANTHARAJU et al., 2016; GUTIÉRREZ-GRIJALVA; CASTILLO, 2016).

Além disso, compostos fenólicos são caracterizados pela capacidade de quelar íons metálicos, evitando a formação de radicais livres (PEREIRA et al., 2009). Dessa forma, os compostos fenólicos demonstram várias atividades biológicas, incluindo anticancerígenas, antivirais, antibacterianas e anti-inflamatórias (SHASHANK; PANDEY, 2013). Quercetina 3-rutinosídeo, ácido 3,5-di-cafeoilquínico, ácido 4,5-di-cafeoilquínico e ácido 5-mono cafeoilquínico de *G. pseudochina* var. extratos de folhas de *hispida* possuem propriedades anti-inflamatórias, bem como a inibição do anti-NF-κB foi relatada (SIRIWATANAMETANON; HEINRICH, 2011).

1.4.2 Métodos de avaliação quantitativa

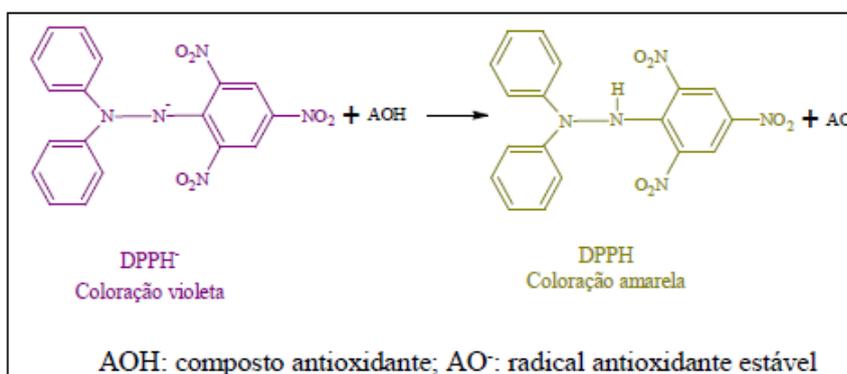
A quantificação de compostos com atividades antioxidantes pode ser realizada mediante diversas técnicas laboratoriais, dentre as quais destacam-se o método de captura do radical 2,2-

difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e método de captura do radical ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6- sulfônico) (ABTS), a fim de se estimar a atividade antioxidante de frutas e vegetais (THAIPONG et al., 2006). O ensaio empregando o radical DPPH tem sido amplamente utilizado em diferentes amostras, tais como frutas, vegetais, plantas medicinais, ervas aromáticas, temperos, cereais, leguminosas, chás, folhas, cogumelos e algas, devido à sua alta sensibilidade e facilidade de aplicação (BOROSKI et al., 2015, MOON; SHIBAMOTO, 2009).

A metodologia DPPH é utilizada para avaliação do potencial de eliminação de radicais livres de uma molécula antioxidante, sendo também considerado um método colorimétrico padrão e de fácil execução para a avaliação de propriedades antioxidantes de compostos puros. O DPPH é um radical livre sintético estável que é amplamente utilizado para avaliar a capacidade dos compostos de agirem como sequestradores de radicais livres ou doadores de hidrogênio radicais e para medir a atividade antioxidante (ALMA et al., 2003; JABBARI et al., 2014; JABBARI; GHARIB, 2012; KARIOTI et al., 2004; KORDALI et al., 2005; SHARMA; BHAT, 2009).

Na reação de oxirredução entre o radical DPPH e a espécie antioxidante, o elétron desemparelhado do átomo de N se emparelha com um átomo de H cedido pelo composto antioxidante. O antioxidante, por outro lado, perde o átomo de H mas se estabiliza por ressonância (BOROSKI et al., 2015). O radical DPPH possui coloração violeta, com absorção máxima na região de 517 nm (515 a 528 nm) e por se tratar de uma reação estequiométrica em relação ao número de átomos de hidrogênio absorvidos, tem sua absorbância diminuída em decorrência da presença de antioxidantes, passando para coloração amarela, através da reação (BOROSKI et al., 2015; IONITA, 2005; MOON; SHIBAMOTO, 2009), conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Estabilização do radical DPPH

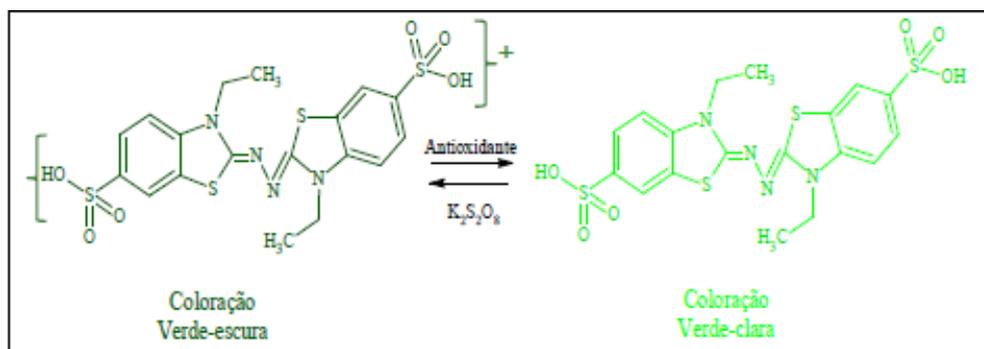


Os resultados são geralmente expressos em função do valor do EC_{50} da amostra, ou seja, a quantidade necessária de antioxidantes na referida amostra para diminuir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (MOON; SHIBAMOTO, 2009).

O método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) segue o mesmo princípio de avaliação de extratos com base em sua capacidade de capturar radicais livres e tem expressiva aplicação nos ensaios de quantificação de compostos antioxidantes em diferentes matrizes (NENADIS et al., 2004).

A atividade antioxidante da amostra mediante esta metodologia é medida pela capacidade em estabilizar o cátion radical ABTS presente na solução (coloração verde-escura), que volta à forma do composto neutro ABTS (coloração verde-clara) (Figura 4). O deslocamento do equilíbrio entre as duas formas do ABTS ocasiona a descoloração da solução e a diminuição da absorbância em 734 nm (BOROSKI et al., 2015).

Figura 4 - Estabilização do radical ABTS



Fonte: BOROSKI et al., 2015

Para desenvolver esta técnica, é necessário gerar o radical estável ABTS por meio de uma reação de oxidação do ABTS que geralmente ocorre com uso de persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$) (BOROSKI et al., 2015). O uso comum de Trolox como antioxidante padrão torna o método conhecido como Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox, comumente usada a sigla originária do inglês TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*). Os resultados são expressos como atividade antioxidante equivalente ao Trolox, ou seja, a concentração da solução equivalente a uma concentração pré-estabelecida de Trolox (SANCHEZ-MORENO, 2002).

A simplicidade de execução, aliada à versatilidade do radical ABTS, o qual pode ser dissolvido em um meio aquoso e orgânico, além de quantificar compostos antioxidantes de

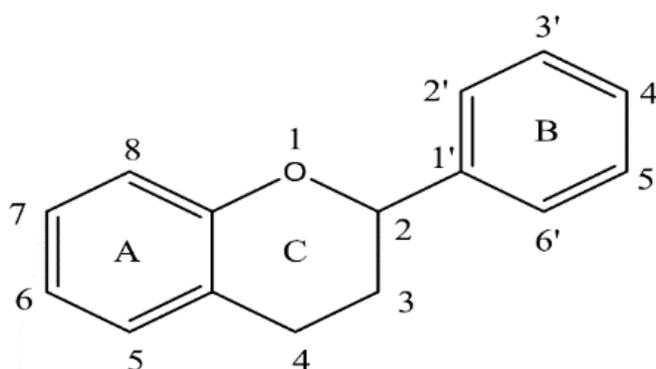
caráter hidrofílico e lipofílico, fazem do método, um dos mais aplicados em análises de antioxidantes de fontes diversas, tais como: frutas, vegetais, plantas medicinais, bebidas, cereais, dentre outros (KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009; SANCHEZ-MORENO, 2002).

1.4.3 Teor de Flavonoides

Os flavonoides podem ser encontrados em diferentes partes de uma planta, estando contidos nos vacúolos das células vegetais. São substâncias que constituem importantes propriedades farmacológicas no organismo humano (YAO et al., 2004) e compõem a classe de componentes fitoquímicos isolados para espécies de *Sida* (SUTRADHAR et al., 2008). A presença de flavonoides em espécies vegetais parece estar relacionada à defesa da planta, à radiação ultravioleta, à fungos e bactérias, bem como à atração para agentes polinizadores em função de sua pigmentação (ZUANAZZI; MONTANHA, 2007).

Os flavonoides são compostos polifenólicos compostos por 15 carbonos com dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de três carbonos. Conforme ilustrado na Figura 5. As principais subclasses desses compostos C6 – C3 – C6 são as flavonas, flavonóis, isoflavonas, flavanonas e antocianidinas. Outros grupos flavonoides que são componentes dietéticos menores são as chalconas, di-hidrocalas, diidroflavonóis, flavan-3,4-dióis, cumarinas e auronas. O esqueleto básico de flavonoides pode ter numerosos substituintes (DEL RIO et al., 2013).

Figura 5 – Estrutura básica de Flavonoides



Fonte: (DEL RIO et al., 2013)

Flavonoides através de sua capacidade de estabilizar radicais livres e espécies reativas de oxigênio, são considerados potentes antioxidantes naturais (PETRUSSA et al., 2013). Esse potencial é devido aos de grupos hidroxila ligados à estrutura, sendo diretamente proporcional o aumento da atividade antioxidante com o aumento de hidroxilas e queda da atividade

antioxidante devida as glicosilações. Esse fenômeno ocorre porque os flavonoides são doadores de elétrons/H⁺, devido à redução dos diversos grupos hidroxila presentes na estrutura (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; YAO et al., 2004).

2 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DO ESTADO DA ARTE

Concomitante ao crescente desenvolvimento tecnológico para a industrialização de alimentos, com processos ágeis e eficazes, é uma realidade também crescente, a preocupação quanto aos aspectos da saúde do consumidor. Assim, uma tendência que ganha força é a busca por alternativas viáveis de substituição de compostos sintéticos pelos naturais, para emprego nas formulações de alimentos. Desse modo, o contínuo estudo em pesquisa e desenvolvimento vem de encontro à necessidade, principalmente no que se refere à manutenção da qualidade, como de composição e relevância nutricional.

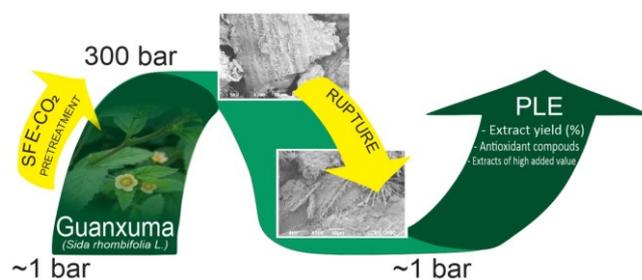
A aplicação de métodos tecnológicos que demonstrem gerar menores impactos ambientais, bem como produtos obtidos por estes sistemas, que atendam às necessidades produtivas, mas com maior responsabilidade ambiental tem ganhado atenção de empresas e consumidores. Diante de tal cenário, as técnicas de extração propostas no referido estudo, possibilitam conferir a obtenção de compostos bioativos de alta qualidade, aliadas aos requisitos de uma produção mais limpa e com menor geração de resíduos. Garantindo assumir uma maior responsabilidade ambiental para os fabricantes do produto em questão.

Diante do exposto, pretende-se com este estudo, a obtenção de extratos de *S. rhombifolia*, vegetal amplamente conhecido pela sua extensa ocorrência em plantações e terrenos baldios, sendo até mesmo considerado uma erva-daninha. No entanto, o interesse nesta planta baseia-se inicialmente no conhecimento de senso comum, denotando a possível presença de compostos bioativos, pois é reportado seu uso no sul do Brasil como erva medicinal, por meio de sua incorporação no preparo do chimarrão, bebida típica da região.

Relatos bibliográficos remetem à *S. rhombifolia* ser uma espécie vegetal abundante, de ocorrência mundial. Em função de sua extensa ocorrência em áreas agrícolas, onde exemplares dessa espécie podem ser concorrentes às cultivares, são reportados na literatura estudos que visam o controle de seu desenvolvimento. No âmbito que corresponde à benefícios medicinais, são escassas as informações, restringindo à relatos baseados em técnicas convencionais de extração, através do emprego de agitação mecânica e utilização de soluções hidro alcólicas e

solventes orgânicos, no entanto denotando aos extratos de *S. rhombifolia* atividades cardioprotetoras, anti-malarial, antioxidantes.

Tendo em vista as propriedades desta matriz vegetal e a lacuna existente nos relatos literários, o referido estudo visa contribuir com a comunidade científica e industrial. Nesse contexto, extração supercrítica e extração com líquido pressurizado, usando solventes GRAS para obtenção de compostos bioativos de interesse, são estudadas por meio de análise comparativa, inclusive com as técnicas convencionais à baixa pressão. Além disso, avaliar o comportamento quanto à ampliação de escala em extração com líquido pressurizado, por representar ser rota para obtenção de um produto final, passível de ser incorporado à formulação de um alimento ou fármaco mediante sua estabilização em microcápsulas obtidas por meio do spray-drying. Deste modo, não só pelos fatores de qualidade e segurança envolvidos, garantindo suas funcionalidades e aplicação, é fechado o ciclo produtivo de um promissor produto oriundo de fonte renovável e de processamento sob conceitos de tecnologia verde.



CAPÍTULO III

ABORDAGEM INTEGRADA DE BIORREFINARIA PARA AUMENTAR A RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DE *Sida rhombifolia*¹

¹ FERRO, D. M., MAZZUTTI, S., VITALI, L., OLIVEIRA MÜLLER, C. M., & FERREIRA, S. R. S. Integrated extraction approach to increase the recovery of antioxidant compounds from *Sida rhombifolia* leaves. **Journal of Supercritical Fluids**, 149, 10–19, 2019. (Vide apêndice)

1 INTRODUÇÃO

S. rhombifolia, planta pertencente à família Malvaceae, tem sido amplamente reconhecida como uma planta de propriedades medicinais, antioxidante e anti-inflamatória, principalmente. São atribuídos à espécie diferentes propriedades conforme relatos da literatura. Nesse sentido, a abordagem da integração de processos, é incorporada ao estudo na concepção de maximizar a recuperação de compostos de interesse. A integração de processos, no conceito de biorrefinaria, é descrita primordialmente como a conversão de biomassa (bioresíduos, microalgas, algas, plantas, biomassa florestal, etc.) em energia e uma variedade de subprodutos, principalmente biocombustíveis e coprodutos de valor agregado (HERRERO; IBAÑEZ, 2018).

Dentre os métodos de extração comumente empregados para obtenção de compostos bioativos de matrizes vegetais, são os convencionais já consolidados industrialmente, no entanto com uso de solventes potencialmente danosos ao meio ambiente, hexano por exemplo. Tendo em vista a aplicação de tecnologias e metodologias que visam uma maior seletividade de compostos de interesse, bem como a redução de impactos ambientais, cabe a aplicação de métodos de extração não convencionais.

Extrações com CO₂ supercrítico e extração com líquido pressurizado são alternativas ambientalmente viáveis. Ambos métodos representam o interesse da comunidade científica, no âmbito de elucidar aspectos pertinentes à estas ferramentas que auxiliam nos processos com menor impacto ambiental, otimizando e maximizando resultados.

Neste sentido, o emprego das tecnologias de extração supercrítica e líquido pressurizado visam a obtenção de extratos concentrados em compostos de interesse. A abordagem integrada de biorrefinaria, além de proporcionar a obtenção de produtos em diferentes fases do processo, permite ainda considerar a primeira etapa como um pré-tratamento para os ensaios sequenciais. Dessa forma, esse projeto permite o estudo da primeira de extração com CO₂ supercrítico como um estágio de pré-tratamento para o PLE, propiciando maior rendimento de extrato com grande potencial antioxidante.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No Brasil, a biorrefinação tem sido essencialmente ligada à produção de biocombustíveis e os estudos de biorrefinarias enfatizam frequentemente análises de viabilidade técnica e econômica e avaliação do desempenho ambiental (MATHEWS et al., 2011; SOUZA; GOPAL; SEABRA, 2015). Enquanto a maioria deles se concentra na produção de portadores de energia, a relevância da agroindústria brasileira orienta a exploração de compostos bioativos baseados em biorrefinarias, no campo da extração de produtos naturais para a obtenção de compostos direcionados das matrizes vegetais. Em particular, a extração de compostos bioativos é de grande interesse, tanto para a indústria de alimentos funcionais quanto para a produção de suplementos alimentares (HERRERO; IBÁÑEZ, 2018; SANTOS; MAGRINI, 2018).

A extração de compostos de alto valor de matrizes naturais, em um conceito de biorrefinaria, deve usar solventes alternativos, recuperar energia, usar tecnologias inovadoras, produzir coprodutos em vez de resíduos, reduzir operações unitárias e favorecer segurança, robustez e controle processos (CHERUBINI, 2010; MATHEWS et al., 2011). Para alcançar estes requisitos, técnicas avançadas ambientalmente amigáveis, como a extração com fluido supercrítico (ESC) e a extração com líquido pressurizado (do inglês: *Pressurized Liquid Extraction* (PLE)) podem ser de interesse (DEL PILAR SÁNCHEZ-CAMARGO et al., 2017; MEIRELES, 2007).

Diversos fatores afetam o processo de PLE e esta técnica versátil pode ser integrada com outros métodos para a aplicação de um conceito de biorrefinaria, por exemplo com o uso de ESC no primeiro passo, seguido por PLE. Essa combinação intercalada por uma etapa de despressurização permitiria a fragilização das paredes celulares da matriz sólida, liberando o soluto que não é solúvel em CO₂ supercrítico, podendo considerar como uma etapa de pré-tratamento para o PLE.

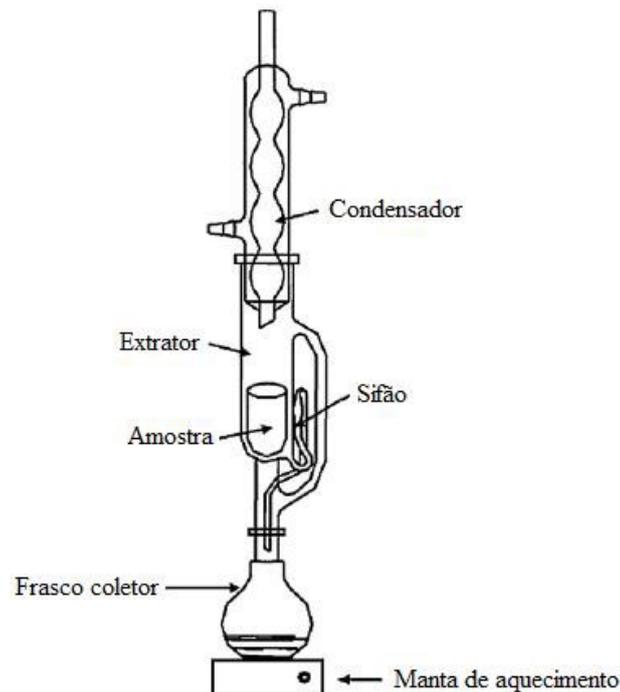
A despressurização rápida durante a ESC causa ruptura celular, devido à expansão de CO₂ (UQUICHE; MARTÍNEZ, 2016; ZHENG; LIN; TSAO, 1998). Este processo de ruptura celular é dividido principalmente em duas etapas. Na primeira, a matriz vegetal é saturada com o fluido supercrítico em condições constantes de temperatura e pressão durante o processo de extração. Subsequentemente, o sistema é levado a um estado supersaturado pela pressão de redução rápida (pressão induzida pela separação de fases) resultando no crescimento de bolhas de gás dentro da matriz com conseqüente ruptura da parede celular (KHOSRAVI-DARANI et al., 2004; UQUICHE; MARTÍNEZ, 2016). A despressurização ocasiona o colapso da estrutura vegetal, permitindo acesso à regiões e compostos de difícil acesso. Uma vez obtida essa abertura, novos caminhos para o solvente na PLE estão disponíveis, o que representa o aumento de rendimento na segunda fase de extrações.

2.1 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO À BAIXA PRESSÃO

2.1.1 Soxhlet

A metodologia de extração por Soxhlet foi desenvolvida pelo químico alemão Ritter Von Soxhlet, em 1899, com o intuito de determinar a fração lipídica em leites (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010). O aparato é composto por: um condensador, um extrator com sifão, um frasco coletor e uma manta de aquecimento, conforme demonstrado na Figura 6.

Figura 6 – Ilustração do aparato para Extração em Soxhlet



Fonte: Luque de Castro; Priego-Capote (2010).

Integrando um dos métodos considerados convencionais, o processo basicamente é realizado pela adição da amostra em cartucho que posteriormente é acoplado ao extrator. O solvente, em quantidade pré-determinada, é inserido no frasco coletor e aquecido até entrar em ebulição. Ao chegar ao condensador por onde circula um líquido à baixa temperatura, o vapor do solvente é condensado, e ao gotejar sobre o cartucho, extrai o composto de interesse. O sifão trabalha como um vaso comunicante, controlando o nível de solvente em contato com o cartucho. Quando o nível de solvente ultrapassa o nível máximo do sifão, solvente e extrato são direcionados para o frasco coletor e assim, o processo se reinicia (AZMIR et al., 2013; LUQUE DE CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998; LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Pela facilidade em executar o procedimento, este método apresenta vantagens como o baixo custo de aquisição do aparato e itens periféricos de fácil aquisição e/ou adaptação. Assim, o uso de

solvente e o emprego de temperaturas elevadas, facilita o desprendimento do extrato frente à matriz, resultando em alto rendimento de extração e a supressão da etapa de filtração, uma vez que a amostra sólida não se encontra em contato direto com o solvente (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010). Em contrapartida, o que é tido como vantagem, em alguns casos, pode ser visto como desvantagem quando se analisam outros aspectos, como longo tempo de operação, a alta temperatura empregada pode degradar compostos termolábeis de interesse. Outra desvantagem do método é o uso de solventes orgânicos, os quais, em muitos casos, estão associados a problemas ambientais (BIMAKR et al., 2011; LOPRESTO et al., 2014; LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Mesmo considerando as desvantagens significativas, este procedimento de extração é utilizado como método oficial em diversas aplicações (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010) e devido ao alto rendimento, resultante da baixa seletividade, aliado à simplicidade de operação, o método é utilizado como forma de comparação com métodos não convencionais em termos de rendimento e qualidade de extratos obtidos (GRIGONIS et al., 2005).

2.1.2 Ultrassom

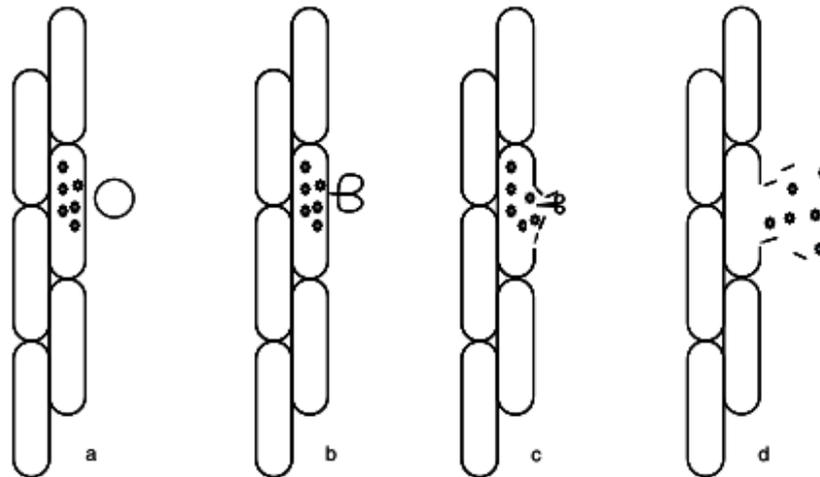
Ultrassom é considerado um método eficaz para a extração de compostos a partir de amostras sólidas, devido à sua rapidez, simplicidade, baixo custo, e baixos volumes de solvente empregados (PINGRET; FABIANO-TIXIER; CHEMAT, 2013). Além disso, possibilita a extração de compostos termolábeis (LUQUE-GARCI; CASTRO, 2003). Esse método tem sido utilizado para a obtenção de vários compostos de produtos naturais, como proteínas, açúcares, complexos polissacarídeos-proteínas, óleos, antioxidantes, entre outros. Assim como a técnica de Soxhlet, a seletividade é unicamente influenciada pela escolha do solvente (JOANA GIL-CHÁVEZ et al., 2013).

A eficiência da extração por ultrassom pode ser afetada por diversas variáveis, como composição do solvente, temperatura, amplitude do ultrassom, ciclo, pH do solvente e relação solvente-sólido (CARRERA et al., 2012; SETYANINGSIH et al., 2016). A técnica de ultrassom baseia-se na formação de ondas ultrassônicas de alta frequência que são capazes de causar cavitação devido aos ciclos de expansão e contração experimentados pelo material. Esses ciclos interrompem as paredes celulares da matriz sólida e isso favorece a penetração do solvente e a transferência de massa, aumentando assim a taxa de extração (SANTOS et al., 2015; TOMA et al., 2001).

A ação sob a matriz sólida é dada em função dos ciclos de compressão e expansão que formam bolhas de cavitação que por sua vez crescem sucessivamente devido às variações de amplitude das ondas. Uma vez que as bolhas atingem seu tamanho crítico, o mínimo de energia recebida resulta em um colapso instantâneo (Figura 7). Devido ao colapso, cada bolha pode gerar energia capaz de aumentar a temperatura e pressão local em 5000 K e 500 atm, respectivamente, seguida de um

resfriamento repentino de aproximadamente 109 K/s (WU et al., 2013). Segundo Chemat; Zill-E-Huma; Khan (2011), a pressão no momento de colapso das bolhas pode chegar a 2000 atm, em um banho ultrassônico operando à temperatura constante.

Figura 7 – Colapso da matriz sólida mediante bolhas de cavitação



Fonte: (CHEMAT et al., 2017)

O ultrassom é um tipo de radiação que é usado atualmente em um número crescente de aplicações na indústria, engenharia, medicina e química. Em particular, os químicos analíticos incorporaram a extração assistida por ultrassom em seu trabalho devido à sua capacidade de acelerar as etapas do processo analítico (CAPOTE; CASTRO, 2007; CASTRO, 2004).

2.2 MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO À ALTA PRESSÃO

2.2.1 Extração Supercrítica (ESC)

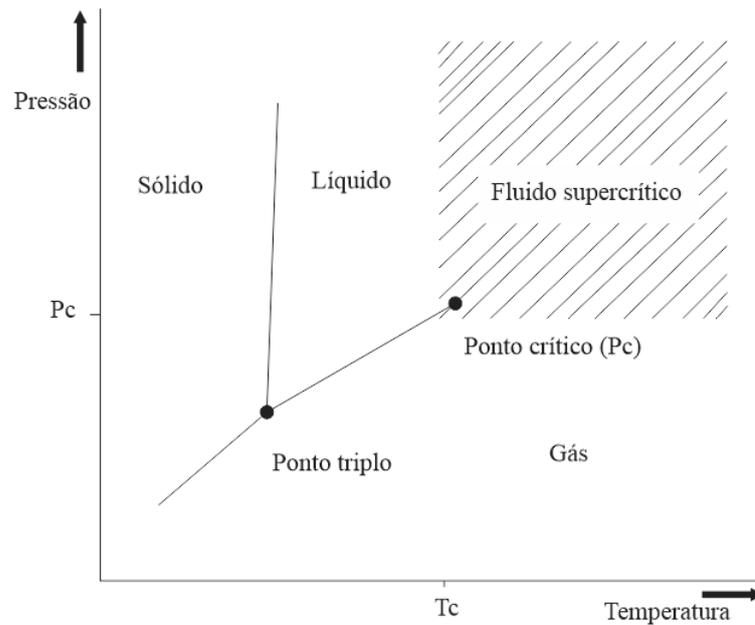
A ESC tem sido reconhecida como um procedimento promissor para aplicações em alimentos, na área farmacêutica e cosmética, pois proporciona maior seletividade, menores tempos de extração e não utiliza solventes orgânicos tóxicos (HERRERO; CIFUENTES; IBAÑEZ, 2006; SERRA et al., 2010).

A tecnologia com fluido supercrítico tem se desenvolvido consideravelmente em um grande número de setores industriais. Fluidos supercríticos são empregados para extração de várias substâncias, tais como a cafeína do café, nicotina do tabaco, óleos de alimentos, em corantes de tecidos fabris ou como fase móvel em cromatografia de fluidos supercríticos (MARSAL et al., 2000).

O fluido quando submetido à pressão e temperatura acima do seu ponto crítico torna-se supercrítico. Nestas condições o fluido apresenta densidade similar à dos líquidos e viscosidade que

se assemelha à dos gases, conferindo a capacidade de difusão intermediária entre estes dois estados. Dessa forma, ao assumir a condição supercrítica, conforme demonstrado pela Figura 8, o fluido pode ser definido como o estado no qual líquido e gás são indistinguíveis entre si (HERRERO; CIFUENTES; IBAÑEZ, 2006).

Figura 8 – Diagrama de fases para um componente puro



Fonte: Adaptado de Mukhopadhyay (2000)

A variação da pressão e/ou temperatura faz com que os fluidos supercríticos tenham alterado seu poder de solvatação, o que possibilita o controle da mesma. Também vale ressaltar que a viscosidade do fluido supercrítico possui característica que assegura elevada capacidade para a transferência de massa, uma vez que esta é muito menor do que a dos líquidos e semelhante à dos gases, tornando-os solventes de extração em um processo supercrítico (BRUNNER, 1994)

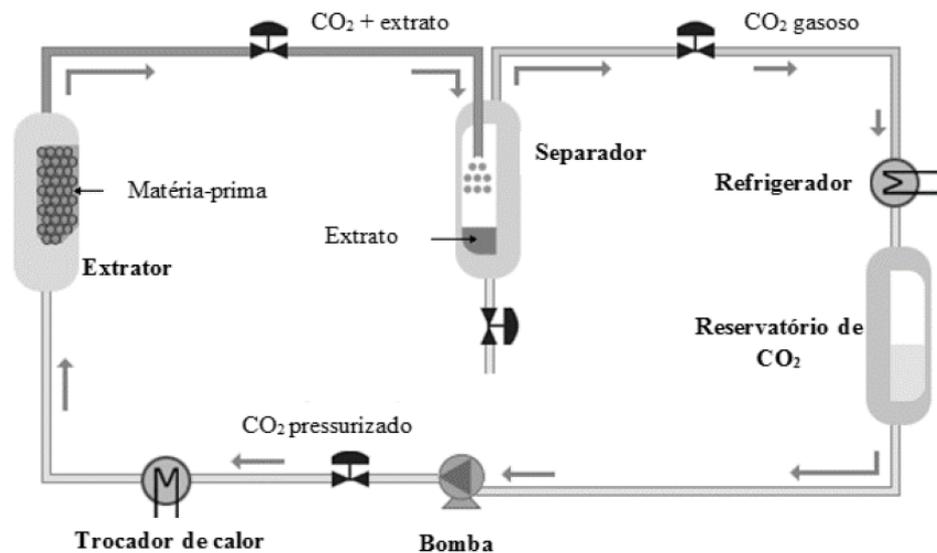
Dentre os diferentes fluidos possíveis de serem utilizados em um processo de extração supercrítico, destaca-se o dióxido de carbono (CO_2), sendo o mais empregado devido à facilidade em obtê-lo, por ser seguro e de baixo custo (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

O CO_2 supercrítico tem crescente interesse na recuperação de compostos benéficos à saúde, sendo atrativo para as indústrias de alimentos e farmacêuticas. Considerado ideal para a extração de produtos naturais, por apresentar baixa toxicidade, não ser explosivo e ser fácil de remover a partir de produtos extraídos. Além disso, o CO_2 por fazer parte de um método de extração livre de solventes orgânicos, é reconhecido como ambientalmente amigável (KHAW et al., 2017).

2.2.1.1 Procedimento de Extração

O processo de extração é baseado na interação de um fluido em estado supercrítico, no caso o CO_2 e um leito fixo de amostra, sendo desencadeado um processo de separação física que remove um soluto ou mistura de solutos da fase sólida, inicialmente propriamente da extração, seguida pela separação do extrato do solvente empregado. No esquema da Figura 9 esse processo é ilustrado de forma simplificada.

Figura 9 – Esquema simplificado do processo ESC



Fonte: Suflux, 2018

De acordo com Brunner (1994), este processo de extração compreende alguns passos: 1) fluido supercrítico absorvido pela matriz vegetal, inchando as estruturas celulares e, concomitantemente, diminuindo a resistência à transferência de massa; 2) os compostos são dissolvidos no interior das células; 3) processo de difusão, os compostos são transportados para fora das células; 4) ao sair das células, a mistura entre compostos e CO_2 supercrítico é direcionada para a superfície da matriz vegetal onde, por fim, será completamente extraída por convecção.

Esse comportamento é característico do processo extrativo com fluidos supercríticos, permitindo a construção de uma curva cinética ou curva global de extração (CGE), obtida pela relação massa acumulada de extrato em função do tempo total de extração, com dados coletados em intervalos pré-determinados de tempo. A CGE fornece informações fundamentais acerca dos fenômenos de transferência de massa relativos à matriz vegetal em estudo, possibilitando comparações de diversos ensaios desta mesma matéria-prima realizadas no mesmo equipamento (BRUNNER, 1994).

Diferentes mecanismos de transferência de massa controlam o processo extrativo, permitindo que sejam atribuídas à CGE três distintas etapas de extração (DA SILVA; ROCHA-SANTOS;

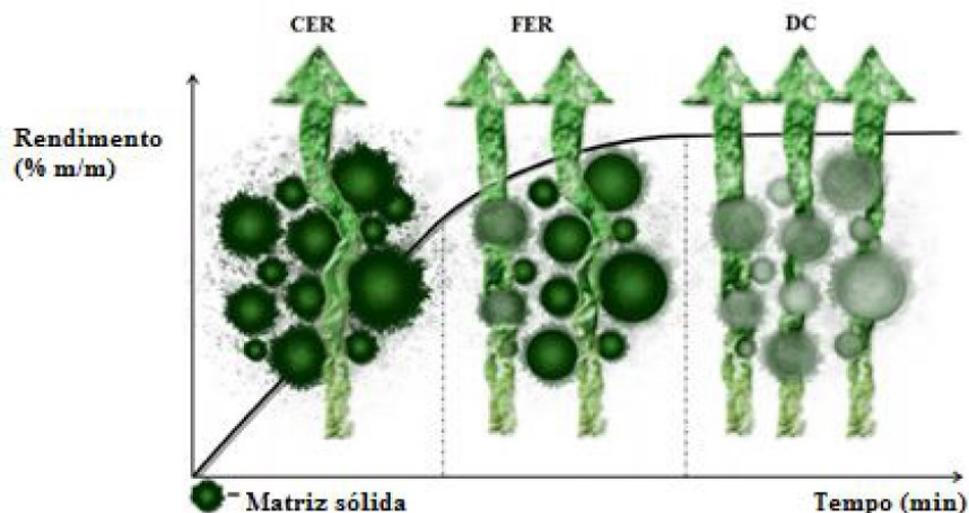
DUARTE, 2016; FERREIRA; MEIRELES, 2002; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009), conforme descrito abaixo e ilustrado na Figura 10:

a) Taxa de extração constante (CER – *Constant Extraction Rate*): etapa onde a superfície externa da partícula é coberta pelo extrato, o qual é facilmente extraído pelo solvente, atingindo sua concentração máxima na saturação (solubilidade de equilíbrio). Segundo Pereira; Meireles (2010), 50 a 90% do extrato pode ser obtido nesta etapa. Portanto, em muitos casos, a extração é finalizada logo após a etapa CER, exceto nos casos onde um composto de interesse apresenta baixa solubilidade no solvente ou se localiza em uma estrutura celular de difícil acesso por parte do solvente.

b) Taxa de extração decrescente (FER – *Falling Extraction Rate*): etapa na qual a disponibilidade do extrato localizado na superfície da partícula diminui. Concomitantemente, inicia-se o processo de transferência de massa por difusão.

c) Taxa de difusão controlada (DC – *Diffusion Controlled*): etapa final de extração, onde a transferência de massa por difusão é preponderante, ocorrendo desde o interior das partículas.

Figura 10 – Ilustração da Curva Global de Extração (CGE)



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

De forma contínua o fluido pressurizado que permeia através do leito de partículas, é absorvido pela estrutura celular que se dilata, sendo que a resistência ao transporte de massa diminui. Os componentes solubilizados são carreados para a superfície do sólido, compondo a etapa difusional. Paralelamente, os compostos solúveis são dissolvidos pelo solvente, passando a fazer parte da fase fluida e escoando para a saída do extrator. Após a extração ocorre a etapa de separação em que a pressão do sistema é reduzida, o poder de solubilização do solvente extrato diminui drasticamente e

o soluto precipita. Após a separação, o solvente pode ser reutilizado no sistema (BRUNNER, 1994; PEREIRA; MEIRELES, 2010).

2.2.2 Extração com Líquido Pressurizado (PLE)

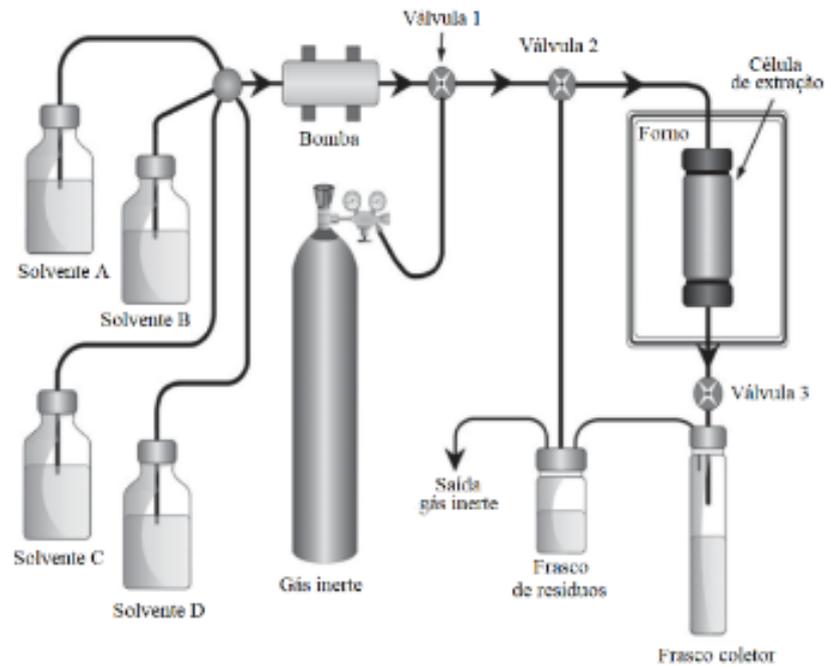
Extração com Líquido Pressurizado é uma técnica de extração onde geralmente o soluto a partir de amostras sólidas é obtido com um solvente adequado sob temperatura de 40 a 200 °C, e pressão de 3 a 20 MPa, por curtos períodos de tempo. No entanto, para a obtenção de compostos bioativos comumente se estabelece uma pressão de extração alta o suficiente para manter os solventes no estado líquido, e a influência da pressão de extração não é mais estudada (MUSTAFA; TURNER, 2011; WIJNGAARD et al., 2012a). A diminuição da viscosidade do solvente pelo aumento da temperatura ocasiona que a solubilidade do soluto seja aumentada. Além disso, o emprego de altas temperaturas provoca a diminuição das interações entre o soluto e a matriz, facilitando a difusão do soluto para a superfície da matriz.

Nos processos que envolvem compostos bioativos, temperatura é um ponto que deve ser tratado com atenção, uma vez que temperaturas elevadas podem ocasionar perdas da bioatividade de alguns compostos e ao mesmo tempo fornecer melhores resultados em termos de rendimento de extração. Portanto, esse parâmetro deve ser selecionado levando em consideração aspectos intrínsecos da matriz vegetal. A temperatura é um ponto que permite elucidar parâmetros benéficos para a busca de composições naturais de uma amostra, já reconhecida como uma vantagem adicional em termos de bioatividade dos extratos obtidos (AMASHUKELI et al., 2007; CHA et al., 2010; PLAZA et al., 2010).

Em termos de compostos extraíveis, a possibilidade de recuperação mais eficientes, pode ser atribuída ao emprego de temperaturas elevadas, as quais aumentam a solubilidade destes compostos, aumentando a difusão e reduzindo a viscosidade do solvente, a tensão interfacial e assim aumentando a transferência de massa. Além disso, a temperatura também afeta a constante dielétrica do solvente, afetando sua seletividade (MACHADO et al., 2015).

O processo PLE pode ser executado pelo método estático, dinâmico ou ainda pela combinação destes. No método estático, o leito de extração é formado pelo empacotamento da amostra no extrator de aço inoxidável, cuja temperatura de processo é mantida constante pelo escoamento de água através da camisa externa do extrator (Figura 11). Na sequência o sistema é preenchido com o solvente de extração e permanece dessa forma pelo tempo pretendido, até que o sistema seja esgotado mediante injeção de gás inerte, obtendo o extrato no frasco coletor. No método dinâmico, o solvente é continuamente bombeado através da amostra, conseqüentemente, os equilíbrios podem ser deslocados e a eficiência do procedimento de extração pode ser aumentada. Esta abordagem mostrou fornecer rendimentos de extração mais elevados do que as extrações estáticas no isolamento de taxanos diterpênicos de *Taxus canadenses* (WANG et al., 2011) e extração de compostos fenólicos de diferentes espécies de *Pinus* (LIN; CHANG; DENG, 2009).

Figura 11 – Esquema simplificado do processo PLE



Fonte: (TURNER; WALDEBÄCK, 2013)

A eficiência desta técnica de extração tem sido comparada, quanto a rendimento e composição de extratos, à de outras técnicas modernas e clássicas (CHOI K. K. C.; LEUNG, H. W.; HUIE, C. W., 2003; CONTE et al., 1997; HAWTHORNE et al., 2000; HEEMKEN; THEOBALD; WENCLAWIAK, 1997; LI R.; MANSUY, L.; FLECK, S.; FAURE, P., 2002). Solventes de grau alimentício, como etanol e água, podem ser propostos como uma abordagem verde para a extração de componentes bioativos utilizando esta técnica (HERRERO et al., 2013). O emprego de temperaturas elevadas contribui para a redução da polaridade do solvente, uma vez que as estruturas destes solventes são afetadas. Isso faz com que haja dissolução de compostos apolares. Vale ressaltar também, que o aumento das temperaturas no processo PLE, não diminui a capacidade de doação e aceitação de dipolaridade e ligação de hidrogênio desses solventes, de modo que eles também dissolvem e resolvem solutos polares (MARCUS, 2018).

Uma das tendências mais importantes na aplicação de PLE é a obtenção de compostos bioativos com características antioxidantes. Neste cenário, matrizes vegetais são mais frequentemente estudadas, e tem como principal ponto em comum o emprego de solventes ecológicos e considerados GRAS, estreitando o caminho para as aplicações na produção de compostos alimentícios. Uma análise comparativa do PLE com maceração, US (CHA et al., 2010) e soxhlet (HU et al., 2011), demonstrou que PLE fornece melhores resultados do que as técnicas convencionais de extração, envolvendo significativamente, volumes menores de solvente e menor tempo de processo (HERRERO et al., 2013).

Nesse contexto, PLE têm sido recomendado para aplicação de extrações de compostos bioativos de matrizes vegetais (GARCIA-MENDOZA et al., 2017; MACHADO et al., 2017; PEREIRA et al., 2016; VIGANÓ et al., 2016a, 2016b). As vantagens correspondem a tendência de investigar sua instalação em acoplamentos com outros sistemas de extração, para proporcionar maior eficiência de extração e grau de pureza dos compostos obtidos (ROSTAGNO; D'ARRIGO; MARTÍNEZ, 2010). Por exemplo, extrações com CO₂ supercrítico como solvente, prioritariamente a recuperação de compostos são de característica apolar, enquanto que pela técnica PLE, são os compostos de polares os mais susceptíveis à extração, dentre eles estão os polifenóis (WIJNGAARD et al., 2012b). Portanto, configura-se a possibilidade de ampliação de rendimentos e diversidade de produtos nos sistemas combinados com PLE.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS

3.1.1 *S. rhombifolia* L.

A coleta das partes aéreas de *S. rhombifolia* ocorreu no município de Florianópolis – SC, em março de 2017. A espécie foi identificada mediante comparativo com exemplares do Herbário Flor da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, onde também foi realizado um depósito da exsicata, registrada sob o número FLOR 49727.

A determinação do local de coleta foi baseada na observação de muitos exemplares da espécie nas proximidades da via pública de trânsito, localizada no Bairro Costeira do Pirajubaé, no município de Florianópolis/SC. A Figura 12 elucida as condições ambientais encontradas no local de coleta.

Figura 12 – Local de coleta da Guanxuma



Fonte: O autor

3.1.2 Determinação do teor de umidade e voláteis

O teor de umidade foi determinado de acordo com a metodologia 012/IV do Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2008). Pesaram-se cerca de 5 g de amostra em cadinho previamente tarado, com auxílio de balança analítica com 0,0001 g de precisão (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brasil), seguido de aquecimento em estufa com circulação forçada de ar (E.L. 003, Odontobrás, Ribeirão Preto, Brasil) a 105 °C por 3 h. Decorrido esse tempo, o cadinho foi colocado em dessecador para arrefecimento e então pesado. Em seguida, repetiu-se a etapa de aquecimento, seguida de resfriamento e peso, de hora

em hora, até observação de peso constante. Para o cálculo do teor de umidade e substâncias voláteis, realizado em triplicata, em base úmida, empregou-se a Equação 1.

$$\% \text{ umidade} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde, m_f é a massa final da amostra em gramas e m_i é a massa inicial da amostra.

3.1.3 Determinação do tamanho médio de partícula

As plantas coletadas foram dispostas em bandejas e secas em estufa com circulação forçada de ar (De Leo, Porto Alegre, Brasil), a 40 °C por 24 h. Em seguida, as amostras foram fragmentadas em moinho de facas (De Leo, Porto Alegre, Brasil), acondicionadas em sacos de polietileno e armazenadas em freezer doméstico a -18 °C até os experimentos serem realizados.

A determinação do diâmetro médio das partículas se deu pela inserção de 100 g da matéria-prima devidamente seca e moída, pesada em balança de 0,0001 g de precisão (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brasil), posteriormente colocadas em jogo de peneiras série Tyler, com mesh variando de -16/+80, sendo o conjunto de peneiras agitado por 30 min. Com as frações retidas em cada peneira, calculou-se o diâmetro médio das partículas, Equações 2 e 3 (GOMIDE, 1980).

$$\bar{d}_s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta l_i}{d_t}}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta l_i}{d_t^3}}} \quad (2)$$

$$\Delta l_i = \frac{m_i}{m_t} \quad (3)$$

Onde, \bar{d}_s é o diâmetro médio das partículas (mm), m_i é a massa de amostra retida na peneira i (g), m_t é a massa total de amostra (g), d_i é o diâmetro da peneira i (mm) e n é o número de frações.

3.1.4 Determinação da massa específica real

A massa específica real (ρ_r) da amostra de Guanxuma foi determinada no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC), utilizando a técnica de picnometria em gás hélio, qual segue o princípio de Arquimedes de deslocamento de fluidos, com o uso do equipamento AccuPyc II 1340 da Micrometrics. A utilização dessa técnica em geral apresenta bons resultados,

uma vez que o gás hélio penetra nos poros da matriz vegetal devido a sua baixa tensão superficial sem alterar as características das partículas. Os resultados foram expressos em $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

3.1.5 Caracterização do leito de partículas

A massa específica aparente (ρ_a) foi determinada por meio da relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações e o volume do leito ocupado. A porosidade total do leito de partículas (ε) foi calculado com os dados da massa específica real obtida na seção 3.1.4 e a massa específica aparente por meio da Equação 4.

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (4)$$

3.2 EXTRAÇÕES A BAIXAS PRESSÃO

3.2.1 Extração Soxhlet

A obtenção de extratos pelo método Soxhlet se deu de acordo com a metodologia 920.39C da AOAC (2005). Foram pesados 5 g de amostra diretamente em cartucho de papel filtro, o qual foi inserido em extrator Soxhlet. Respeitando a razão 1:30 (m/v), foram adicionados 150 ml de solvente no balão de fundo chato, procedendo-se à ligação de manta de aquecimento na temperatura de ebulição do solvente e proteção com lâminas de alumínio para manutenção da temperatura, conforme Figura 13. O tempo total de análise foi de 6 h contadas a partir do início do gotejamento.

Figura 13 – Aparato experimental do método de extração por Soxhlet



Hexano foi o solvente empregado para o estudo, para quantificação em rendimento de compostos apolares, evidenciando o procedimento convencional empregado e reportado na literatura. Além desse, com a proposta de utilizar solventes de média e alta polaridade e também, ambientalmente seguros, foram então empregados o etanol (99,8%, Neon, São Paulo, Brasil) e água destilada.

3.2.2 Extração com Ultrassom

A técnica de Extração Assistida por Ultrassom foi adaptada de Cheok et al. (2013) onde, previamente, 5 g de amostra foram pesadas em um béquer de 250 ml e solubilizadas em 150 ml de solvente (etanol, água e misturas etanol-água), mantendo a razão amostra – solvente em 1:30 (m/v). Em seguida, a amostra foi inserida em um equipamento ultrassônico (Ultronique QR 500, Ecosonics, Indaiatuba, Brasil). Uma sonda de titânio de 4 mm de diâmetro foi introduzida na amostra, a 5 mm da superfície, como meio de transmissão de ondas a 20 kHz de frequência.

Em decorrência de processos de cavitação oriundos dos efeitos de expansão e compressão das bolhas, um superaquecimento na amostra pode comprometer a qualidade do extrato. Para tanto, a amostra inserida no béquer foi continuamente resfriada buscando manter o controle da temperatura durante o experimento. Os parâmetros tempo (min) e potência (W) foram fixados em 10 e 250, respectivamente.

3.3 EXTRAÇÕES NÃO CONVENCIONAIS A ALTAS PRESSÕES

3.3.1 Extração Supercrítica

Neste estudo os experimentos foram conduzidos com fluido supercrítico em regime dinâmico de extração, o qual caracteriza-se pela passagem contínua do solvente supercrítico através matriz sólida, tanto nos experimentos cinéticos como na determinação do rendimento global de extração.

3.3.1.1 Unidade de Extração Supercrítica

Os experimentos de extração supercrítica foram realizados na unidade de extração localizada no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A unidade de extração opera em pressões de até 30 MPa e vazões de solvente de até 2,2 kg.h⁻¹. A Figura 14 apresenta a unidade de extração supercrítica utilizada no presente trabalho.

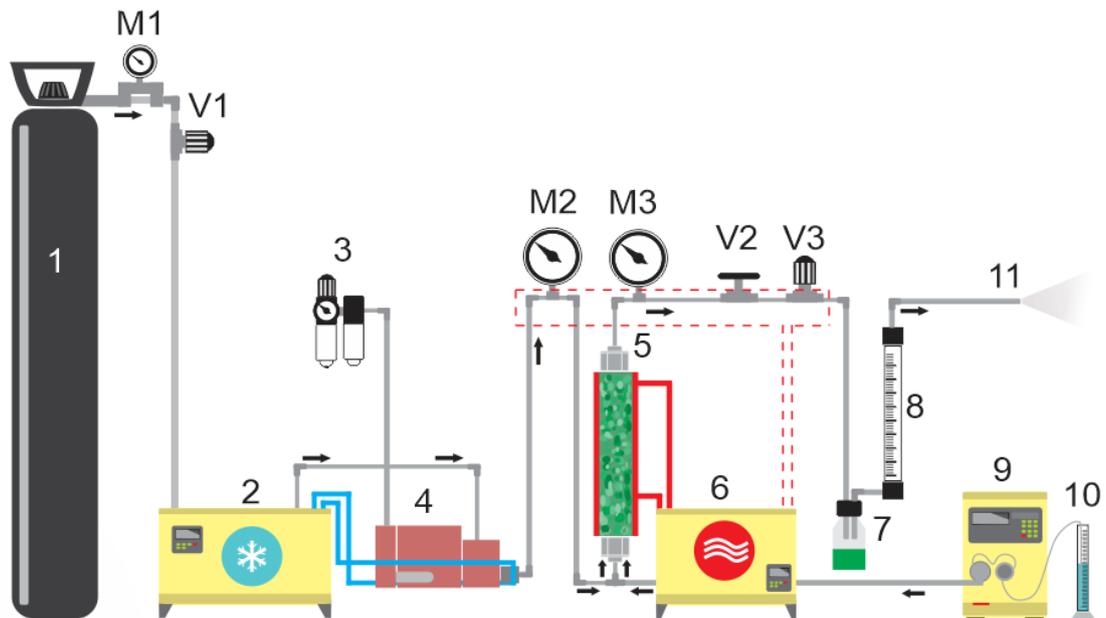
Figura 14 – Unidade de extração supercrítica do LATESC



Fonte: O autor

A unidade de extração supercrítica utilizada no presente trabalho foi montada no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC). Maiores detalhes acerca dos princípios de elaboração e da construção do equipamento podem ser visualizados através do trabalho apresentado por (MAZZUTTI et al., 2012; MEZZOMO et al., 2013). A Figura 15 apresenta o diagrama da unidade, contemplando os equipamentos que a compõem, bem como o fluxo de extração.

Figura 15 – Diagrama ilustrativo da unidade de extração supercrítica



Fonte: O autor

O sistema ilustrado pela Figura 13, consiste em:

- 1 – Reservatório de CO₂;
- 2 – Banho de resfriamento do CO₂;
- 3 – Ar comprimido;
- 4 – Bomba de CO₂;
- 5 – Coluna de extração;
- 6 – Banho de aquecimento;
- 7 – Frasco coletor de extrato;
- 8 - Rotâmetro;
- 9 – Bomba de cossolvente;
- 10 - Reservatório de cossolvente;
- 11 – Purga do CO₂ do sistema;
- M1 – Manômetro de entrada do CO₂;
- M2 – Manômetro de entrada da coluna;
- M3 - Manômetro de saída da coluna;
- V1 – Válvula de entrada do CO₂;
- V2 – Válvula macrométrica de saída do CO₂ da coluna;
- V3 – Válvula micrométrica de saída do CO₂ da coluna;

3.3.1.2 Determinação da Cinética de Extração

O estudo cinético de extração permite a obtenção de informações que possibilitam a determinação do tempo mais viável para o processo, em função das características da matéria-prima estudada. Nos ensaios para a determinação da cinética de extração da *S. rhombifolia* a coluna foi preenchida com 15 g de matéria-prima, o que permitiu a formação de um leito de partículas com altura de pelo menos o dobro do diâmetro do extrator considerando-se que, com esta relação entre altura e diâmetro do leito, a dispersão axial pode ser desprezada. Após a pressurização, o CO₂ puro foi admitido no sistema a uma vazão de $11 \pm 2 \text{ g min}^{-1}$. Os ensaios foram realizados a uma pressão de 20 e 30 MPa e temperatura de 40 °C, correspondentes ao ponto central dos experimentos. Os frascos de coleta foram previamente pesados e a coleta do extrato obtido realizada em intervalos de tempo pré-determinados. Após 5 min da coleta, a massa dos frascos foi aferida e então determinada a massa de extrato obtida.

A curva global de extração de *S. rhombifolia* está representada na Figura 22. O tempo de extração foi calculado a partir da curva de extração. Os tempos t_{CER} e t_{FER} representam o final das etapas de velocidade constante e decrescente de extração, respectivamente. A velocidade de transferência de massa na etapa CER (MCER) foi obtida a partir de regressão linear da curva de

extração no período CER, realizada com o auxílio de planilha eletrônica, enquanto a concentração de soluto na fase solvente na etapa CER (YCER) foi determinada pela razão entre MCER e QCO₂.

3.3.1.3 Procedimento Experimental

A ilustração diagramática da unidade de extração supercrítica descrita no subitem 3.3.1.1, permite visualizar cada etapa de operação durante o processo de extração. Inicialmente, CO₂ adentra o sistema, tendo seu controle de fluxo realizado pela válvula do cilindro e válvula de regulação (V1), e então segue para o banho termostático frio (-5 °C) contendo etilenoglicol (2), de modo a garantir que o CO₂ esteja em estado líquido ao entrar na bomba, evitando possíveis danos causados por cavitação. A bomba de CO₂ (4) é alimentada por um fluxo de ar comprimido (3) à pressão de 0,4 MPa e controlada pela válvula de frequência, pressurizando o CO₂ até a pressão desejada de operação. O CO₂ é então direcionado para o leito de extração, com leituras manométricas de pressão na entrada e saída do leito (M2 e M3). No processo com uso de cossolvente é neste momento que o CO₂ pressurizado entra em contato com o fluxo de cossolvente oriundo da bomba HPLC (9) e ambos, de forma ascendente, adentram a célula de extração encamisada (5). A coluna é mantida à temperatura de extração por meio de água controlada por um banho termostático que circula no compartimento encamisado. Ao sair da coluna, o CO₂ no estado supercrítico passa pelo processo de despressurização, o qual é controlado pelas válvulas micrométrica e macrométrica (V2 e V3), ambas imersas em um banho termostático quente operando à temperatura de 60 °C, evitando o congelamento do CO₂ ao expandir-se. Por fim, o CO₂ segue para o frasco coletor (7), onde, pela diferença de densidade resultante da despressurização, extrato e CO₂ são separados: o CO₂ segue para o rotâmetro (8), com o intuito de se controlar a vazão de saída do solvente e o extrato é coletado no frasco âmbar (7). No caso de operação com cossolvente, temos a coleta de extrato em meio líquido, o que torna necessário uma etapa de eliminação do solvente em rotaevaporador, para obtenção do extrato puro.

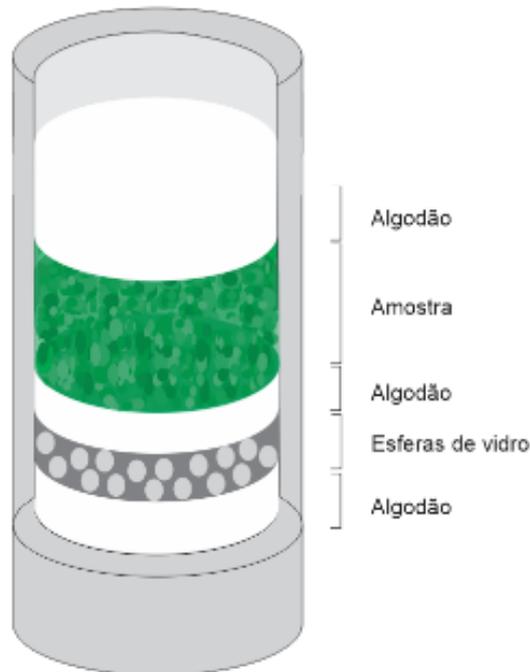
A pressão do sistema é controlada por 3 manômetros: o primeiro manômetro (M1), instalado logo após a válvula do cilindro, permitindo o controle da pressão de entrada na linha; o segundo manômetro (M2), localizado antes da célula de extração, garantindo que solvente adentre à célula na pressão desejada; o terceiro manômetro (M3), acoplado imediatamente após a célula de extração, onde a pressão indicada deve coincidir com a pressão observada no manômetro de entrada da célula.

3.3.1.4 Determinação do Rendimento de Extração

O tempo de extração da *S. rhombifolia* foi definido em 3 h por meio da observação das curvas globais de extração obtida com 20 e 30 MPa, 40 °C e vazão de solvente de $11 \pm 2 \text{ g min}^{-1}$. Nos experimentos foram utilizadas as mesmas massas de matéria-prima empregadas na determinação da

cinética de extração. As extremidades da coluna foram revestidas com algodão para evitar a entrada de partículas sólidas na linha de extração e o espaço restante do leito foi preenchido com esferas de vidro, conforme ilustração da Figura 16.

Figura 16 – Representação da montagem do leito na coluna de extração



Fonte: O autor

A massa de extrato obtida nos frascos foi medida em balança analítica e armazenada em congelador doméstico a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização dos ensaios de avaliação da atividade biológica. O rendimento global (X_0) foi calculado pela razão entre a massa de extrato obtida e a massa de matéria-prima utilizada para formar o leito. A temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ está acima da temperatura crítica do CO_2 ($31,1\text{ }^{\circ}\text{C}$) e é normalmente utilizada na extração de materiais vegetais nos processos de ESC.

3.3.1.5 Uso de cossolvente

As condições de extração de *S. rhombifolia* para a adição de cossolvente com base em dados da literatura foram definidas em 5,0 e 10,0% (m/m) de etanol (MAZZUTTI et al., 2012). As extrações foram realizadas em duplicata, na condição de operação de 20 e 30 MPa, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, vazão de CO_2 de $11 \pm 2\text{ g min}^{-1}$ e tempo de 3 h.

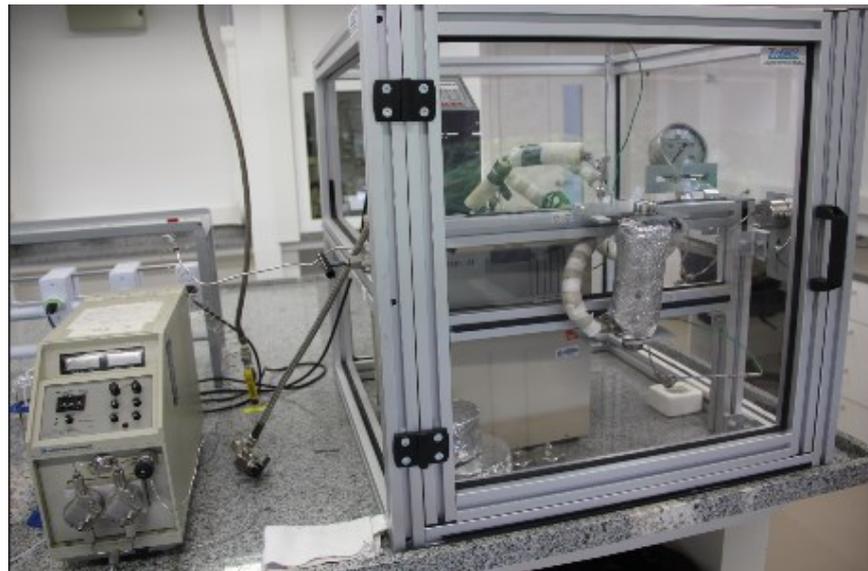
3.3.2 Extração com Líquido Pressurizado

Neste estudo os ensaios foram conduzidos pelo método dinâmico de extração, o qual caracteriza-se pela passagem contínua do solvente através da matriz sólida, tanto nos experimentos cinéticos como na determinação do rendimento global de extração. Foi também conduzido o estudo de integração de processos, usando em PLE o resíduo do leito de extração da ESC, ou seja, faz-se ESC e a mesma porção de matriz vegetal passa por uma nova extração, contribuindo para o conceito de biorrefinaria.

3.3.2.1 Unidade de Extração com Líquido Pressurizado

Os ensaios PLE de *S. rhombifolia* foram realizados no equipamento de extração construído LATESC da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), conforme apresentado na Figura 17.

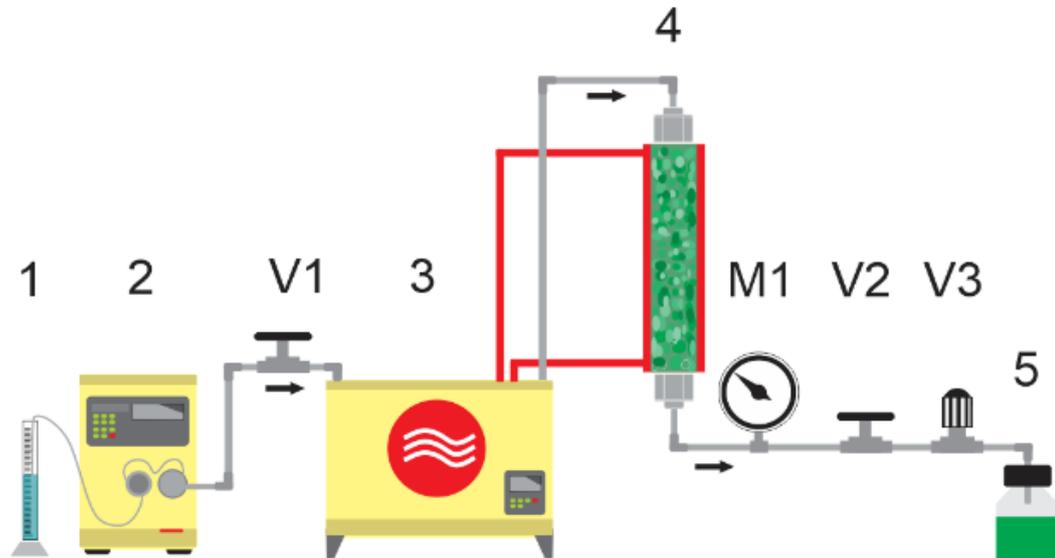
Figura 17 – Unidade de Extração com líquido pressurizado do LATESC



Fonte: O autor

A unidade de extração PLE utilizada no presente trabalho foi montada no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC) e os detalhes acerca dos princípios de elaboração e da construção do equipamento podem ser visualizados no trabalho apresentado por Lasta (2017). A Figura 18 apresenta o diagrama da unidade, contemplando os equipamentos que a compõem, bem como o fluxo de extração.

Figura 18 – Diagrama ilustrativo da unidade extração com líquido pressurizado



Fonte: O autor

O sistema ilustrado pela Figura 18, consiste em:

- 1 – Reservatório de solvente;
- 2 – Bomba HPLC para solvente;
- 3 – Banho de aquecimento;
- 4 – Coluna de extração;
- 5 – Frasco coletor de extrato;
- M1 – Manômetro leitura pressão na coluna;
- V1 – Válvula de entrada do solvente;
- V2 – Válvula macrométrica de saída do solvente e extrato;
- V3 – Válvula micrométrica de saída do solvente e extrato;

3.3.2.2 Determinação da Cinética de Extração

Para os estudos de cinética de extração da *S. rhombifolia* a coluna foi preenchida com 3 g de matéria-prima e 33 g de esferas de vidro. Os ensaios foram realizados a pressão constante de 10 Mpa, temperatura de 40 °C e vazão de solvente de 2 mL.min⁻¹. Os frascos de coleta foram previamente pesados e a coleta do extrato obtido realizada em intervalos de tempo pré-determinados.

Para a construção da curva global de extração representada na Figura 25, foi necessária a etapa de eliminação do solvente, para então quantificar a massa de extrato. O tempo de extração foi calculado a partir da curva de extração.

3.3.2.3 Procedimento experimental

Foram preparadas para as extrações, 3 g de *S. rhombifolia* misturados com 33 g de esferas de vidro, empregada como agente de dispersão, posteriormente acondicionados na coluna de extração de aço inoxidável de 60 mL, assim como efetuado no processo cinético de extração. Antes de cada extração, a coluna foi pré-aquecida à temperatura de operação. Para extrações com mistura de água destilada como solvente, esta foi sonicada por 10 min para a remoção do ar dissolvido antes da extração.

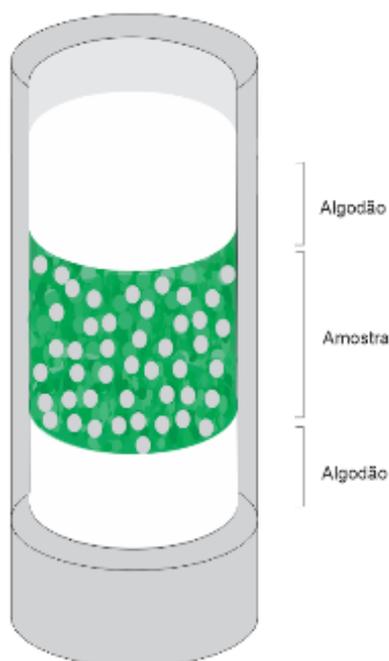
No equipamento descrito no subitem 3.3.2.1 inicialmente, as válvulas V2 e V3 são mantidas fechadas, enquanto ocorre a pressurização pela bomba que envia o solvente à coluna de extração, em fluxo descendente. A coluna de extração é mantida à temperatura desejada de operação por um banho termostático que faz circular água através da camisa do extrator. Esse procedimento segue até atingir-se a pressão desejada, faz-se então a abertura das válvulas V2 e V3, iniciando assim, a contagem do tempo de extração, caracterizando-se regime dinâmico de extração.

As extrações foram realizadas à pressão constante de 10 MPa e às temperaturas de 40, 60 e 80 °C. Utilizou-se a mesma razão entre amostra e solvente (1:30 m/v) utilizada nas análises à baixa pressão, a título de comparação. O tempo total de extração foi de 1 h.

3.3.2.4 Determinação do Rendimento de Extração

O tempo de extração da *S. rhombifolia* foi definido em 1 h a partir da observação das curvas globais de extração obtida com 10 MPa, 40, 60 e 80 °C e vazão de solvente de 2 mL.min⁻¹. Nos experimentos foram utilizadas as mesmas massas de matéria-prima empregadas na determinação da cinética de extração. As extremidades da coluna foram revestidas com algodão para evitar a entrada de partículas sólidas na linha de extração e o espaço restante do leito foi preenchido com esferas de vidro, conforme ilustração da Figura 19.

Figura 19 – Representação da montagem do leito na coluna de extração



Fonte: O autor

A determinação da massa de extrato obtida nos ensaios é dependente da etapa de eliminação do solvente. A eliminação do solvente foi realizada sob pressão reduzida em evaporador rotativo (Fisatom 802, Fisatom, São Paulo, Brasil) e liofilizador (L 101, Liotop, São Carlos, Brasil) (Figura 20). Após a massa aferida, os foram armazenados em congelador doméstico a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização dos ensaios de avaliação da atividade biológica.

Figura 20 – Rotaevaporador utilizado na eliminação do solvente sob pressão negativa



Fonte: O autor

3.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As determinações do teor de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante dos extratos de *S. rhombifolia* foram realizadas no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC). A atividade antioxidante *in vitro* dos extratos foi avaliada por duas técnicas distintas, sendo elas: método do radical DPPH e método do radical ABTS.

3.4.1 Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)

A determinação do teor de compostos fenólicos totais presentes nos extratos de *S. rhombifolia* foi realizada por meio do método de Folin-Ciocalteu (PESCHEL et al., 2006; SINGLETON; ROSSI, 1965).

Para a construção da curva analítica de ácido gálico preparou-se uma solução estoque de 0,005 g.mL⁻¹ de ácido gálico em água destilada. Em balões volumétricos de 100 mL, foram diluídas alíquotas da solução estoque para a obtenção de frações finais de 0, 50, 100, 150, 200, 250 e 350 mg.L⁻¹. A reação de oxidação foi realizada em balões volumétricos de 10 mL, sendo transferidos para estes 100 µL de cada uma das frações, 2 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu. Após 30 segundos e antes de 8 min após a adição do reativo, foram adicionados 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio a 20 % (m/v). Os balões foram aferidos com água destilada até a marca de 10 mL, agitados e deixados em repouso ao abrigo da luz e a temperatura ambiente por 2 h para que a reação ocorresse. A absorbância de cada uma das soluções foi medida a 765 nm em espectrofotômetro. A curva analítica de ácido gálico foi representada pelo gráfico de absorbância versus concentração de ácido gálico (mg.L⁻¹) e está apresentada no Apêndice A.

Os extratos de *S. rhombifolia* foram diluídos em álcool etílico absoluto P.A. na fração final de 10 mg.L⁻¹, e seguiu-se o mesmo procedimento de reação de oxidação descrito para a curva analítica de ácido gálico. Os valores de absorbância encontrados para cada tipo de extrato foram correlacionados com a curva analítica e o teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi determinado pela Equação 5. Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados expressos em mg de GAE.g⁻¹ de extrato, como média ± desvio padrão.

$$CFT (mg\ GAE\ g^{-1}) = \left[\frac{GAE \cdot 1000}{D_{extrato}} \right] \quad (5)$$

Onde:

GAE: equivalente em ácido gálico, obtido pela curva analítica (mg GAE.L⁻¹);

D: diluição da amostra (mg extrato.L⁻¹).

3.4.2 Método do radical DPPH

A atividade antioxidante foi determinada em acordo com a metodologia descrita por Mensor et al. (2001). Concentrações crescentes (5, 10, 25, 50, 125, 250 e 500 mg·mL⁻¹) dos extratos obtidos de *S. rhombifolia* foram adicionadas a uma solução etanólica de DPPH 0,3 mmol·L⁻¹, mantidos ao abrigo da luz e temperatura ambiente e após 30 min efetuou-se a leitura em espectrofotômetro em 517 nm.

A concentração das amostras necessárias para captar 50% do radical livre DPPH (EC50 – *Effective concentration*) foi calculada por análise de regressão linear. Os resultados encontrados de concentração efetiva (EC₅₀) para os extratos analisados foram expressos como média ± desvio padrão.

3.4.3 Método do radical ABTS

Para determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS, utilizou-se a metodologia descrita por Re et al (1999), adaptada por Nenadis et al (2004). Basicamente, o radical ABTS é preparado pela reação de 5 mL de uma solução estoque de ABTS 7 mM com 88 µL de uma solução de persulfato de potássio 2,45 mM. Em seguida, a solução é armazenada ao abrigo da luz, em temperatura ambiente, por 16 h. A solução aquosa de ABTS foi diluída com tampão fosfato de sódio 5 mM a pH 7,4 até uma absorbância de 0,7 (± 0,05) a 734 nm.

O Trolox foi utilizado como padrão e os valores foram calculados a partir da curva padrão (de 0,25 a 2 mM). Os valores das cinco diferentes concentrações de cada amostra testada no ensaio dão uma resposta linear entre 20 e 80% da absorbância do branco. Todas as análises foram realizadas em triplicado. Os resultados foram expressos em mmol de equivalente de trolox por g de extrato seco.

Para se calcular a atividade antioxidante da amostra, deve-se substituir, na equação da reta gerada a partir dos valores das absorbâncias, o valor da absorbância equivalente à concentração de 1000 µmol·L⁻¹ do padrão Trolox, valor obtido mediante a construção prévia da curva padrão.

O valor obtido para o termo X (abscissas) corresponde à diluição da amostra (mg·L⁻¹) equivalente a 1000 µmol·L⁻¹ de Trolox. A curva padrão de Trolox relativa ao método ABTS, juntamente com um diagrama simplificado relativo ao preenchimento dos reagentes nos tubos pelo método ABTS estão disponíveis no Apêndice: Figura 26 e Tabela 17, respectivamente.

3.4.4 Determinação de flavonoides totais (FT)

O teor total de flavonoides foi determinado espectrofotometricamente segundo Woisky e Salatino (1998) com modificações. Para tanto 2 mg do extrato vegetal, foram adicionados à 1 mL do solvente de maior solubilidade do mesmo e lavado ao banho de ultrassom para maior solubilização.

O preparado da solução de determinação consiste na junção da alíquota de 0,15 mL da solução com o extrato, 0,15 mL de uma solução de AlCl_3 2 % e 0,7 mL de EtOH (p.a.). Após 30 min de repouso, foram feitas as leituras das absorvâncias das misturas em um espectrofotômetro de UV-VIS a 415 nm. Como branco, foi utilizada uma solução preparada conforme o procedimento acima, sem a adição da solução de AlCl_3 . O aparecimento de coloração verde é indicativo da presença de flavonoides. Foi construída uma curva analítica com solução de quercetina nas concentrações de 0,0039 a 0,125 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, para comparação ($y = 10,57X - 2,29$; $R^2 = 0,999$). Os testes foram feitos em triplicata. O teor de flavonoides foi expresso em equivalentes de quercetina, ou seja, em $\text{mg EQ}\cdot\text{g}^{-1}$ de amostra vegetal.

3.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

A análise por MEV (JEOL JSM 6390 LV, Akishima, Japão) (Figura 21) foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil), com o conjunto operado a 10 kV, com aumento de $\times 1000$. Quatro amostras foram analisadas, a saber: (A) matéria prima sólida integral; (B) amostra sólida após extração de Soxhlet; (C) amostra sólida após fluxo lento de despressurização de ESC; e (D) amostra sólida após vazão de despressurização rápida do ESC. As amostras foram fixadas nos *stubs* e, devido as amostras apresentarem baixa condução elétrica, recobertas com uma fina camada de ouro usando um metalizado (Baltec SCD 0005).

Figura 21 – Equipamento para análise microscopia eletrônica de varredura (MEV)



Fonte: O autor

3.6 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR HPLC-ESI-MS/MS SERIES (AGILENT® TECHNOLOGIES, ALEMANHA)

A separação cromatográfica e análise espectrométrica das massas foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência, modelo 1200 Series (Agilent® Technologies, Alemanha) equipado com bomba quaternária (G1311A) e degaseificador online (G1322A). O HPLC foi acoplado ao espectrômetro de massas quadrupolo modelo Q trap 3200 com fonte de ionização ESI, Turbo V Ion Source/TurboIonSpray, (Applied Biosystems/MDS Sciex, Concord, Canada), disponíveis no Laboratório de Eletroforese Capilar no Departamento de Química da UFSC. A ionização foi conduzida no modo negativo. O software Analyst versão 1.6.2 foi usado para aquisição e tratamento dos dados obtidos. Os compostos foram separados em coluna Synergi™ Polar-RP 80 Å (4.0 µm, 2.0 x 150 mm d.i.; Phenomenex, USA) acoplada a uma pré-coluna com mesmo material de empacotamento. A fase móvel consistiu de uma solução de metanol/água 95:5 v/v (A) e ácido fórmico em água 0,1 % v/v (B). A separação foi realizada a 30 °C utilizando eluição por gradiente segmentado de acordo com as seguintes etapas: 0 – 5 min, 10 % A; 5 – 7 min, 90 % A; 7 – 10 min, 90 % A; 10 – 17 min, 10 % A. O fluxo utilizado foi de 250 µl min⁻¹ e o volume de injeção foi de 10 µL. Os compostos foram monitorados utilizando monitoramento de reações múltiplas (MRM). A identificação dos compostos fenólicos foi realizada com base no tempo de retenção, íon precursor e seus fragmentos por meio da comparação com os respectivos padrões disponíveis comercialmente. A otimização dos parâmetros do espectrômetro de massas foi realizada por infusão direta de soluções contendo cada composto de interesse individualmente. A quantificação foi realizada monitorando um íon quantitativo selecionado para cada composto e utilizando curva de calibração construída em razão dos compostos previamente identificados. Os resultados de concentração dos compostos nas amostras foram expressos em mg por g de amostra.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de rendimento global de extração, teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram avaliados estatisticamente por análise unidirecional de variância (ANOVA). Quando se verificaram diferenças significativas ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$) entre as médias dos resultados, deu-se continuidade à análise aplicando o teste de Tukey. Dessa forma, a análise estatística foi realizada para detectar diferenças significativas entre os valores de rendimento de extração e entre as percentagens de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO (X_0)

Processos de extração são importantes métodos para o isolamento e posterior identificação de compostos bioativos. A seleção do método de extração e o solvente empregado afetam diretamente a composição química e as propriedades funcionais do extrato final, portanto o estudo destes processos visa identificar a metodologia mais adequada para a obtenção de compostos de interesse em função da seletividade do processo.

Os resultados apresentados neste item mostram o rendimento de extração (X_0), o conteúdo total de fenólicos e o teor de flavonoides totais para a matéria-prima *S. rhombifolia*, com teor de umidade igual a 11 % e diâmetro médio de partícula de 0,25 mm. Foram estudados processos combinados, realizados com solventes em ordem crescente de polaridade (CO_2 ou hexano menor que a mistura etanol / água).

4.1.1 Métodos Convencionais de Extração

4.1.1.1 Soxhlet (SOX) e Ultrassom (US)

Dentre os métodos convencionais de extração o processo por SOX é um dos mais conhecidos e empregados. O mesmo também é utilizado como parâmetro comparativo com o método de extração por via supercrítica, em função das características apolares dos solventes envolvidos nestes dois métodos.

Conforme demonstram dados da Tabela 1, a extração SOX apresentou rendimento de (4,86 % \pm 0,1). A alta temperatura, tempo de processo e reciclagem de solvente usados contribuem para aumentar a extração. Por exemplo, temperaturas mais altas reduzem a tensão superficial e a viscosidade do solvente, permitindo o acesso de sítios ativos dentro da matriz sólida, aumentando a solubilização do soluto (MARKOM et al., 2007).

Diferentes solventes empregados neste método de extração resultam em diferentes índices de solubilidade e portanto extratos com diferentes composições, variando de acordo com o solvente empregado, por exemplo, solutos polares são solúveis em solventes polares como metanol, etanol, água, etc.; e solutos apolares dissolvem-se em solventes apolares como hexano, benzeno, ciclohexano, tolueno, etc. A solubilidade dos compostos naturais geralmente aumenta com o aumento nos índices de polaridade (JADHAV et al., 2009).

A solubilidade atribuída ao índice de polaridade dos solventes pode corresponder ao comportamento apresentado para extrações utilizando água como solvente, onde observou-se significativa diferença para os demais solventes testados. Segundo Kawamura et al. (2016), o aumento da polaridade do solvente reduz a densidade da superfície onde o soluto está presente.

Já na Extração Assistida por Ultrassom, técnica classificada como não convencional à baixa pressão, a mesma pode ser uma alternativa para a otimização do processo extrativo. Optou-se por utilizar diferentes solventes neste processo extrativo, com a finalidade de: estudar qual retornaria com o maior rendimento e a possibilidade de atuar com solventes GRAS, tais como etanol, água e misturas etanol-água (v/v). Os resultados para rendimento global das amostras estão apresentados na tabela abaixo Tabela 1.

Tabela 1 - Rendimento global de extração por Soxhlet e Ultrassom

Solvente	SOX	US
		X ₀ (%) ⁽¹⁾
Hexano	4,86 ^c ± 0,11	7,94 ^a ± 0,51
Etanol	9,13 ^b ± 0,30	3,63 ^b ± 0,34
EtOH/H ₂ O [70/30]	-	8,59 ^a ± 0,11
EtOH/H ₂ O [50/50]	-	4,09 ^b ± 0,51
EtOH/H ₂ O [30/70]	-	3,62 ^b ± 0,71
Água	18,56 ^a ± 0,51	3,96 ^b ± 0,41

⁽¹⁾ média ± desvio padrão (n=2); Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p > 0,05).

Os resultados demonstram que o emprego de água como solvente ocasionou uma significativa redução no rendimento, quando comparado ao processo SOX. Esse fato pode estar relacionado às características distintas entre os processos de extração, um com alta temperatura e extenso tempo de extração (SOX) e outro com reduzido tempo de extração e controle da temperatura. No entanto, um aumento dos rendimentos de extração de *S. rhombifolia* quando foram utilizadas misturas de etanol e água foi observado, o que pode estar relacionado à presença de gases contidos na água. Esse comportamento é característico da extração por US, sob influência do processo de cavitação, permitindo a maior extração em comparação ao SOX. Na extração os gases são adsorvidos nos poros das partículas mediante a cavitação no líquido, os gases são comprimidos para o interior da partícula, e num segundo momento, onde ocorre a expansão, esses gases ou vapores são dirigidos para fora da partícula, promovendo a ruptura da parede celular (MARTINES et al., 2000).

4.1.2 Extração Supercrítica

4.1.2.1 Caracterização do Leito de Extração

O teor de umidade das amostras de *S. rhombifolia* foi de $12,6 \pm 0,5\%$. Na Tabela 2 estão apresentados o diâmetro médio de partícula, massa específica real, massa específica aparente e porosidade do leito das amostras de conforme descrito anteriormente nas seções 3.1.2 ao 3.1.5. Estes parâmetros são de suma importância para a caracterização do leito de extração, e posterior entendimento dos mecanismos de transferência de massa envolvidos e o conhecimento das partes que compõem o sistema de extração.

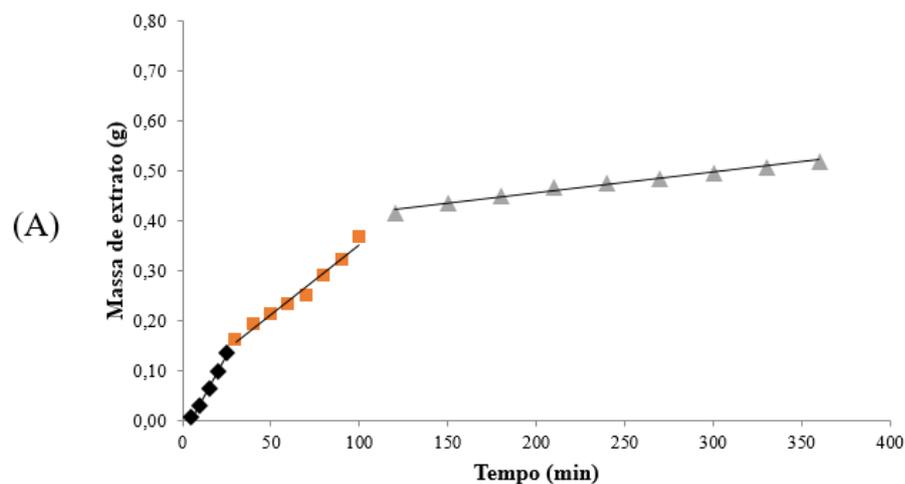
Tabela 2 – Caracterização do leito de extração de *S. rhombifolia*

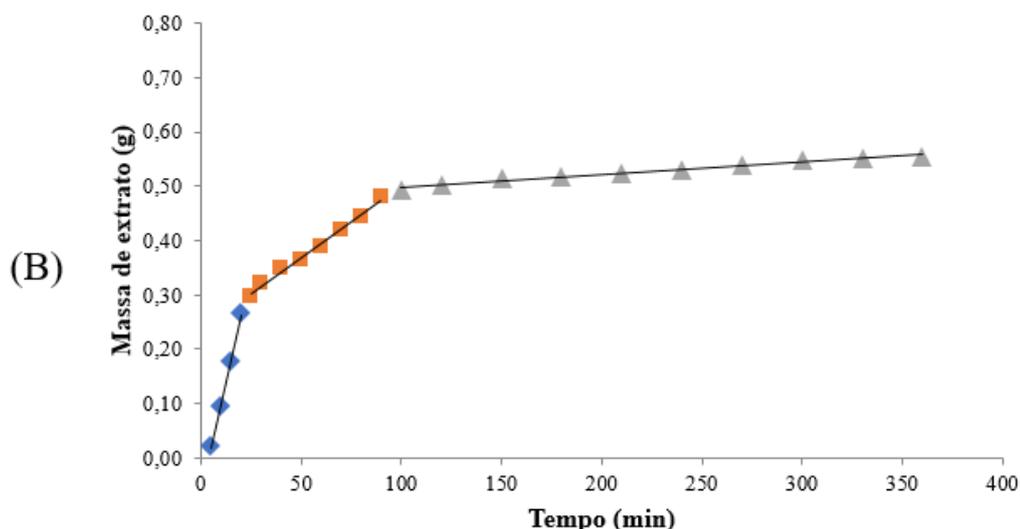
Diâmetro médio das partículas (mm)	Massa específica real ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Massa específica aparente ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	Porosidade do leito (ϵ)
$0,230 \pm 0,01$	$1,441 \pm 0,01$	$0,621 \pm 0,01$	0,57

4.1.2.2 Determinação da Cinética de Extração

Um processo de extração pode ser avaliado pela quantidade de extrato (massa de extrato ou rendimento) como função do tempo de processo, estes resultados permitem a construção de uma curva global de extração. As curvas de extrações, mediante o comportamento cinético de *S. rhombifolia*, foram construídas para as condições de 40 °C, 20 MPa (A) e 40 °C, 30 MPa (B), ambas com vazão de CO₂ empregada de $11 \pm 2 \text{ g min}^{-1}$, representa na Figura 22.

Figura 22 – Curvas de extração cinética com CO₂ supercrítico à 40 °C e $11 \pm 2 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ de CO₂ a 20 MPa (A) e 30 MPa (B)





Fonte: O autor

A determinação do tempo de extração é necessária para a avaliação da influência das condições de temperatura e pressão empregadas na determinação do rendimento global de extração (X_0) com fluido supercrítico, sendo definido com base nas etapas da curva de extração.

Conforme citação na seção 2.2.1 deste capítulo, a extração pode ser dividida em três etapas, que juntas formam a curva de extração, sendo elas: etapa de velocidade constante de extração (CER), etapa de velocidade decrescente de extração (FER) e o processo difusional. Para a determinação do rendimento de extração (X_0), o tempo de extração utilizado levou em consideração o mínimo suficiente para assegurar que o período difusional fosse alcançado (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

Verifica-se pela análise da curva de extração (Figura 20), que o comportamento da amostra frente as condições de processo, permitem que sejam ajustadas três retas, aos dados experimentais. Sendo que a primeira reta representa a velocidade de transferência de massa da etapa CER. Logo o tempo correspondente à intersecção entre as duas primeiras etapas, visíveis pelas retas, é o t_{CER} , indicando o tempo mínimo de duração de um ciclo de ESC. O tempo t_{FER} , corresponde a intersecção entre a segunda e terceira reta e, em geral representa a duração máxima que um ciclo de ESC pode manter, tendo em vista a viabilidade econômica (MEIRELES, 2007).

O comportamento cinético da extração permite obter parâmetros para melhores condições operacionais no processamento da matéria-prima. Na Figura 20, estão identificadas as etapas da extração, as quais permitem compreender os parâmetros cinéticos t_{CER} (tempo de duração da etapa CER) e M_{CER} (taxa de extração da etapa CER) e Y_{CER} (concentração de soluto na fase solvente na etapa CER) obtidas pela regressão linear dos dados obtidos nas curvas de extração e apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros cinéticos de extração de *S. rhombifolia* com fluido supercrítico nas condições de 40 °C, vazão de CO₂ 11 ± 2 g min⁻¹, 20 MPa (A) e 40 °C, vazão de CO₂ 11 ± 2 g min⁻¹ 30 MPa (B)

Parâmetro	Período de extração					
	CER ⁽⁶⁾		FER ⁽⁷⁾		DC ⁽⁸⁾	
	A	B	A	B	A	B
t ⁽¹⁾	0 - 25	0 - 20	30 - 100	25 - 90	100 - 360	100 - 360
m ⁽²⁾	0,136	0,251	0,229	0,213	0,153	0,074
X ₀ ⁽³⁾	0,453	0,836	0,769	0,708	0,509	0,245
M ⁽⁴⁾	0,005	0,013	0,011	0,003	0,002	0,0003
Y ⁽⁵⁾	0,0005	0,001	0,0003	0,0003	-	-

⁽¹⁾t: duração da etapa de extração (min); m⁽²⁾: massa de extrato aproximada (g); X₀⁽³⁾: rendimento da etapa (%); M⁽⁴⁾: taxa de extração (g min⁻¹); Y⁽⁵⁾: concentração de soluto na fase solvente (kg kg⁻¹); CER⁽⁶⁾ etapa de extração constante; FER⁽⁷⁾ etapa de extração decrescente, DC⁽⁸⁾ etapa difusional.

Para a cinética (A) as etapas: CER, FER e difusional ocorrem: entre 0 e 25 min; 30 e 100 min e após 120 min, respectivamente. Já na cinética (B) as etapas: CER, FER e difusional ocorrem: entre 0 e 20 min; 25 e 90 min e após 100 min, respectivamente. O tempo fixado para os experimentos e necessário para que seja alcançada a etapa difusiva é de aproximadamente 2 h (120 min), pelo fato de obter a maior parte do soluto disponível na extração. Com estes parâmetros estabelecidos, é estipulado o consumo de 1.320 g de CO₂ por extração ($m_{\text{solvente}}/M = 88 \text{ kg CO}_2/\text{kg amostra}$).

4.1.2.3 Determinação do Rendimento da Extração

Ao determinar o rendimento global de extração, faz-se referência ao máximo de soluto possível de se obter de uma matriz sólida, fazendo uso de técnicas e parâmetros pré-estabelecidos. O rendimento global da extração para o processo de ESC em leito fixo de partículas e método dinâmico de extração é definido como a quantidade de extrato presente na matriz sólida possível de ser extraído pelo solvente nas condições estabelecidas de temperatura e pressão para um tempo de processo pré-determinado (SOVOVA, 1994).

Os resultados para rendimento global de extração (X₀) dos experimentos de ESC, estão relacionados na Tabela 4, juntamente com as condições de temperatura e pressão utilizadas nos ensaios. São apresentados também os dados correspondentes de massa específica (ρ) do CO₂ (ANGUS; ARMSTRONG; REUCK, 1976).

Tabela 4 – Rendimentos globais (X_0) obtidos por extração supercrítica de *S. rhombifolia* em diferentes condições de temperatura (T) e pressão (P).

T (°C)	P (MPa)	ρ (g.cm ⁻³)	Rendimento (%) ⁽¹⁾
40	20	0,840	1,38 ^c ± 0,01
40	30	0,911	1,42 ^{bc} ± 0,03
50	20	0,785	1,47 ^b ± 0,01
50	30	0,871	1,61 ^a ± 0,02

⁽¹⁾ média ± desvio padrão (n=2); Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

O maior rendimento para a ESC de *S. rhombifolia* foi verificado na condição de 30 MPa e 50 °C, sendo este estatisticamente diferente aos demais obtidos no estudo. O menor rendimento global de extração foi verificado na condição de 20 MPa e 40 °C, sendo estatisticamente igual aos valores obtidos na condição de 30 MPa na temperatura de 40 °C. No geral, observa-se que o rendimento de um soluto e sua seletividade, por serem fortemente dependentes da solubilidade, são determinadas pela temperatura e pressão de operação.

Os resultados obtidos demonstram que na condição isotérmica de 50 °C o rendimento aumenta de 1,47± 0,01% para 1,61 ± 0,02% quando a pressão de operação é elevada de 20 para 30 MPa. O solvente supercrítico é afetado pela pressão e temperatura de operação, em função de sua ação na densidade. O poder de solvatação diminui à pressão constante, uma vez que a temperatura está em elevação, enquanto que à temperatura constante, um aumento da pressão aumenta a densidade do fluido supercrítico (BRUNNER, 1994). Dessa forma, o aumento no rendimento de extração de *S. rhombifolia* à temperatura constante pode ser atribuído ao aumento da densidade do fluido supercrítico decorrente do aumento da pressão.

O rendimento total da extração é uma indicação quantitativa da eficiência do processo, embora seja importante determinar não apenas o efeito das variáveis do processo no rendimento, mas também seu impacto sobre as atividades dos extratos finais. Como a solubilização implica em repulsões eletrostáticas e atração entre o solvente e o soluto, admite-se que um solvente polar favorece a solubilização e a extração de compostos polares, enquanto um solvente menos polar promove a extração de moléculas menos polares (JACOTET-NAVARRO et al., 2018).

4.1.2.4 Uso de cossolvente

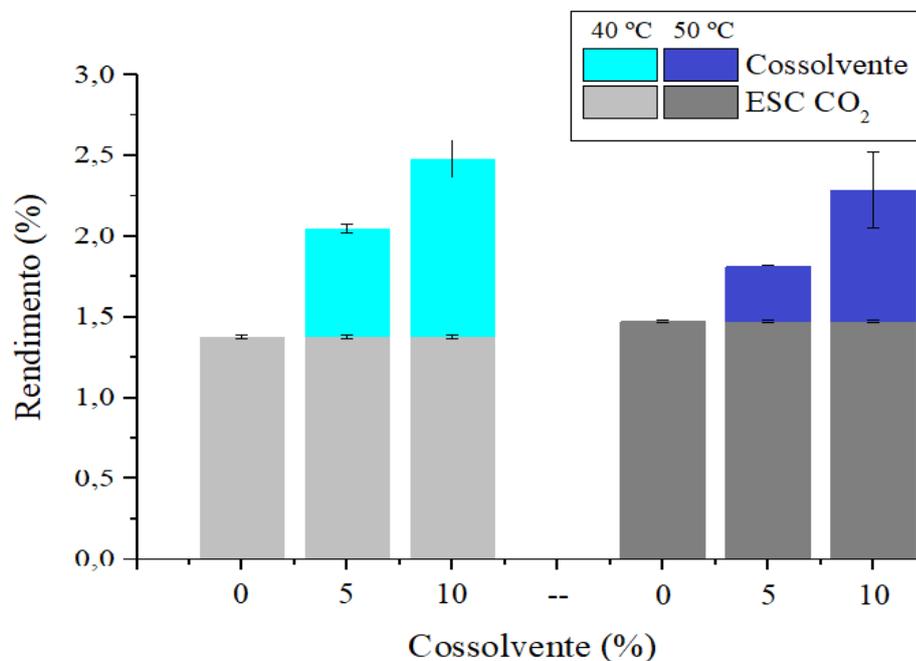
O CO₂ é amplamente utilizado em sistemas de extração supercrítica, no entanto do ponto de vista da extração de compostos bioativos de matrizes naturais, a principal desvantagem de sua utilização é a baixa polaridade. Este fato faz com que haja uma limitação na capacidade de extrair

compostos de maior polaridade, como são a maioria das substâncias com propriedades antioxidantes (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

A utilização de modificadores ao CO₂ supercrítico pode representar o aumento desejado do rendimento de extração, por aumentarem a solubilidade dos compostos presentes na matriz sólida, além do número de componentes solubilizáveis (HERRERO et al., 2010). O emprego de etanol como cossolvente, nas frações de 5,0 e 10% em relação à massa de CO₂ utilizada, foi baseado em outros estudos já realizados com adição de modificadores à extração supercrítica realizados no LATESC (ANDRADE et al., 2012; BENELLI et al., 2010; MAZZUTTI, 2016).

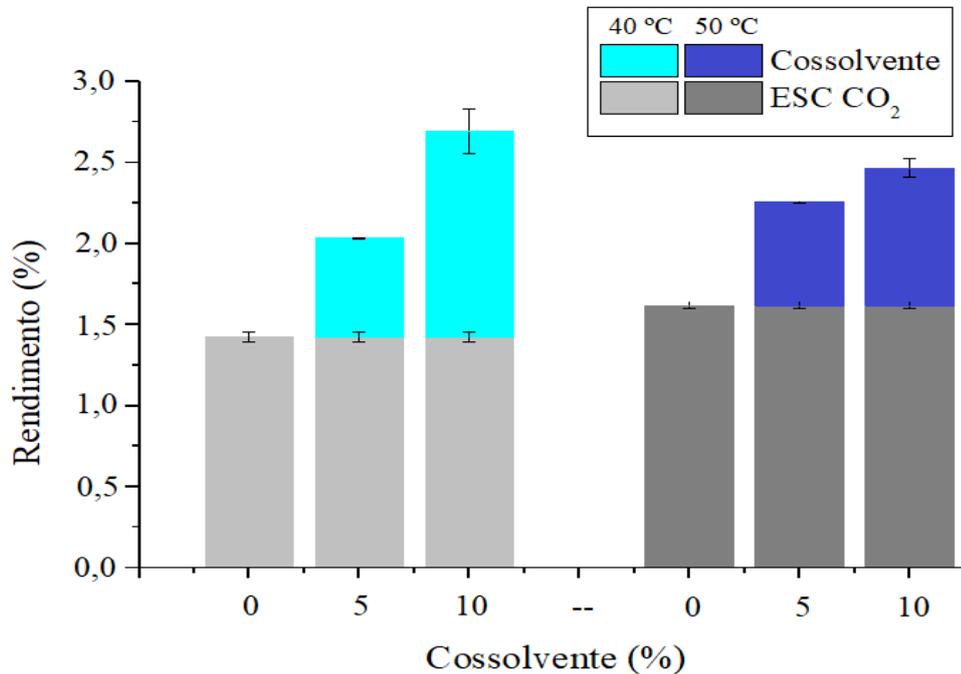
A seleção de um solvente adequado é baseada na segurança do operador e do processo, proteção ambiental e sustentabilidade, o que significa que o solvente verde deve ser quimicamente e fisicamente estável, fácil de usar e fácil de reciclar com possibilidade de reuso. Etanol é considerado um solvente verde ou agrossolvente (BUBALO et al., 2018), sendo selecionado como cossolvente ao CO₂ devido também a sua ampla utilização na indústria de alimentos e farmacêutica e também devido à sua facilidade de eliminação dos extratos por meio de rotaevaporação. Os resultados para as extrações com cossolvente nos experimentos de ESC são demonstrados nas Figuras Figura 23 e Figura 24, juntamente com as condições de temperatura e pressão utilizadas nos ensaios.

Figura 23 - Rendimentos globais (X_0) para os extratos de *S. rhombifolia* utilizando etanol como cossolvente a 20 MPa, 40 e 50 °C e vazão de $11 \pm 2 \text{ g min}^{-1}$.



Fonte: O autor

Figura 24 - Rendimentos globais (X_0) para os extratos de *S. rhombifolia* utilizando etanol como cossolvente a 30 MPa, 40 e 50 °C e vazão de $11 \pm 2 \text{ g min}^{-1}$.



Fonte: O autor

Os resultados no que diz respeito ao rendimento global de extração (X_0) com cossolvente proporcionou um incremento nos valores de rendimento global. A adição de 10% de cossolvente em 40 °C proporcionou um aproximadamente o dobro do rendimento obtido em relação ao uso de CO₂ puro. O emprego de cossolvente em todas condições representou aumento de X_0 , esse fato se deve a solubilização de compostos polares na mistura cossolvente/CO₂ em virtude da afinidade característica do solvente, podendo levar à uma redução da seletividade do processo, mas aumentando o rendimento de extração pela obtenção de um maior número de compostos solubilizados (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

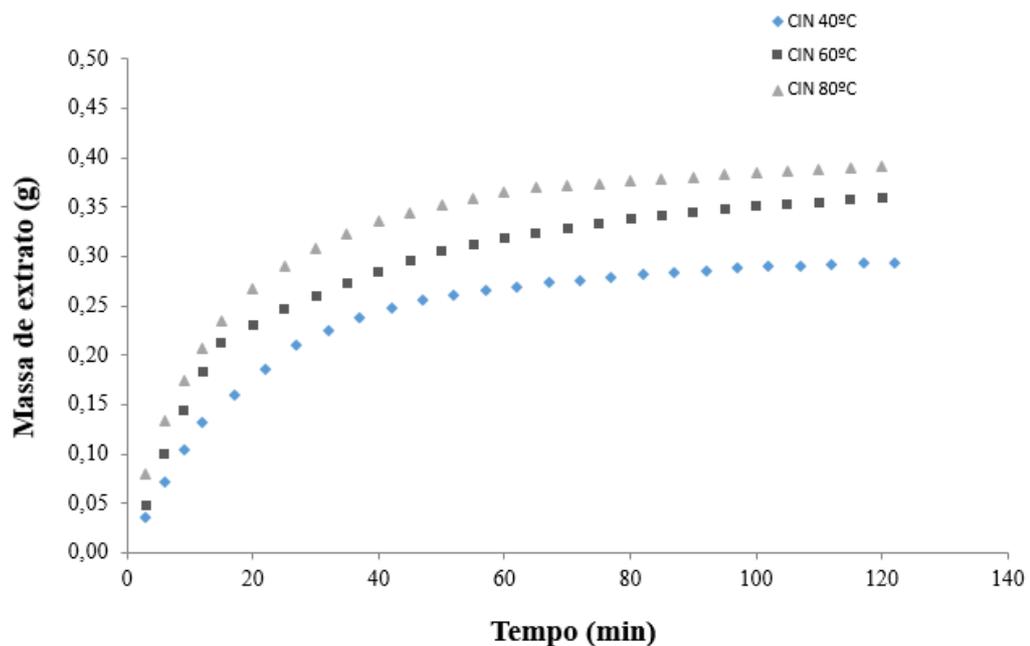
4.1.3 Extração com Líquido Pressurizado

A extração por líquido pressurizado (PLE) foi realizada como segunda técnica de extração em alta pressão dos compostos bioativos das folhas de *S. rhombifolia*. Os resultados apresentados nesta secção referem-se aos ensaios efetuados com a matéria-prima original, conforme descrito nos itens 3.2.1 e 4.1.2.1, bem como referente às amostras que contemplam a integração de processos entre ESC e PLE.

4.1.3.1 Determinação da Cinética de Extração

A construção da curva global de extração, é um processo que permite a caracterização dos parâmetros a serem empregados nos ensaios de extração. Baseado em estudos anteriores realizados no LATESC, foram avaliadas as misturas de etanol e água (70:30 / 50:50 / 30:70). Os resultados corroboram com o estudo de Lasta (2017) onde o aumento de polaridade do solvente propiciou o maior percentual de rendimento, característica atribuída à mistura etanol e água (70:30), quando avaliado com folhas de beterraba. Desta forma, a obtenção de soluto em função do tempo de processo, auxilia na compreensão do comportamento cinético (Figura 25) das amostras de *S. rhombifolia*, onde foram empregadas as condições de 40, 60 e 80 °C, 10 MPa e vazão de solvente 2 mL min⁻¹.

Figura 25 - Curva de extração cinética em PLE a 10 MPa, 40, 60 e 80 °C e 2 mL·min⁻¹ de EtOH



Fonte: O autor

As curvas cinéticas da extração permitem compreender qual a melhor condição operacional, no que se refere à rendimento de soluto no processamento da matéria-prima. Na Figura 26, estão identificadas as curvas de extração que demonstram comportamento semelhante, no entanto com incremento de massa acumulada em função do tempo de processo. Observa-se que o início do processo, etapa CER, correspondente pelo maior percentual obtido dentre as etapas de extração, corroborando com os estudos (OKIYAMA et al., 2018; MAZZUTTI et al., 2012; MEZZOMO et al., 2013). Esse comportamento é também caracterizado quando observado o padrão dos extratos obtidos na cinética, conforme Figura 26, onde vislumbra-se a diminuição da concentração do soluto no solvente em função do tempo.

Figura 26 – Concentração de soluto nos extratos da cinética em PLE antes da recuperação do solvente



Fonte: O autor

4.1.3.2 Determinação do Rendimento da Extração

Com o objetivo de obter a maior quantidade de compostos bioativos com potencial ação antioxidante a partir de *S. rhombifolia* foi realizado o método PLE, de maior afinidade na obtenção de fenólicos e por ser ambientalmente sustentável. Em função das características e propriedades inerentes ao etanol e água, estes ensaios visam extrair compostos com composição na atividade antioxidante. A Tabela 5 apresenta rendimentos de extração de *S. rhombifolia* obtidos com extração em PLE com variação de solventes e temperatura de operação.

Tabela 5 – Rendimentos de extração (X_0) de *S. rhombifolia* obtidos via PLE

Temperatura (°C)	Solvente	Rendimento ¹ (%)
40	EtOH	7,12 ^{fg} ± 0,21
	EtOH/H ₂ O (70:30)	8,95 ^{dc} ± 0,30
	EtOH/H ₂ O (50:50)	7,50 ^{efg} ± 0,27
	EtOH/H ₂ O (30:70)	6,01 ^g ± 0,28
	H ₂ O	4,33 ^g ± 0,31
60	EtOH	8,12 ^{ef} ± 0,24
	EtOH/H ₂ O (70:30)	10,58 ^{bc} ± 0,33
	EtOH/H ₂ O (50:50)	9,02 ^{cde} ± 0,26
	EtOH/H ₂ O (30:70)	7,61 ^{efg} ± 0,30
	H ₂ O	6,42 ± 0,36
80	EtOH	11,03 ^{ab} ± 0,29
	EtOH/H ₂ O (70:30)	12,34 ^a ± 0,35
	EtOH/H ₂ O (50:50)	10,01 ^{bcd} ± 0,25
	EtOH/H ₂ O (30:70)	9,76 ^{bcd} ± 0,35
	H ₂ O	8,63 ^{def} ± 0,33

⁽¹⁾ média ± desvio padrão (n=2); Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Os resultados observados na Tabela 5, elucidam a significativa diferença ($p < 0,05$) entre o tratamento com maior temperatura e variação de solvente para a razão etanol e água (70:30), reportando o maior valor de rendimento (12,34%). Observa-se que de modo geral, as extrações que

envolveram a maior temperatura de misturas de etanol em água, correspondem aos maiores percentuais de rendimento. Esse comportamento pode ser atribuído à ação da mistura de etanol e água como meio de liquefação, o que pode ter contribuído para um aumento significativo da recuperação de compostos de qualidade (CHEN et al., 2012; MINAMI; SAKA, 2005; YUAN et al., 2007). As misturas etanol e água favorecem a liquefação da biomassa reduzindo a formação de intermediários de alto ponto de ebulição. A densidade e a constante dielétrica da mistura etanol com água têm grandes efeitos na dissolução de lignina e derivados de celulose. Conforme Ni e colaboradores (1995) a solubilidade atribuída à mistura etanol e água atuando em compostos lignocelulósicos, aumenta fortemente conforme a concentração de etanol aumenta até 50%, aumenta lentamente na concentração de etanol acima de 50% e atinge a solubilidade máxima quando a concentração de etanol é de 70%.

Para a determinação do rendimento das extrações de *S. rhombifolia* foram também considerados também os aspectos de uma abordagem para o desenvolvimento de um procedimento de biorrefinaria, onde avaliou-se a influência de diferentes condições da matéria-prima na extração do rendimento do PLE, conforme apresentado na Tabela 6. O uso do resíduo ESC obtido com a extração lenta da taxa de despressurização apresentou a menor extração de rendimento ($11,15 \pm 0,7$). Por outro lado, a integração de processos possibilitou obter os maiores rendimentos de extração, com valores de $12,75 \pm 1,0\%$ para uma extração anterior de SOX, seguida por $12,15 \pm 0,7\%$ para ESC anterior com extração rápida da taxa de despressurização.

Tabela 6 – Rendimentos de extração (X_0) em PLE pela integração de processos

Ensaio	Método	Solvente	Amostra	Rendimento (%)
	PLE	EtOH/H ₂ O (70/30)	Amostra original	$12,34^a \pm 0,31$
Integrado	PLE	EtOH/H ₂ O (70/30)	Resíduo SOX	$12,15^a \pm 0,71$
	PLE	EtOH/H ₂ O (70/30)	Resíduo ESC DL ⁽¹⁾	$11,50^c \pm 0,41$
	PLE	EtOH/H ₂ O (70/30)	Resíduo ESC DR ⁽²⁾	$12,75^a \pm 1,01$

⁽¹⁾Resíduo da ESC obtido com despressurização lenta; ⁽²⁾Resíduo da ESC obtido com despressurização rápida. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Além da capacidade solvente para solubilizar um soluto, os fenômenos de transporte de massa determinados pelas complexas interações que ocorrem entre o material vegetal e o solvente devem ser considerados quando a extração é realizada. Os valores de rendimento de extração do PLE mostraram diferença estatística entre as duas taxas de despressurização do ESC (lenta e rápida) ($p < 0,05$). O maior rendimento de extração foi observado quando foi empregado o fluxo rápido de despressurização. A liberação instantânea de CO₂ a alta pressão pode promover a ruptura da parede celular e aumentar a extração de rendimento do PLE. Esta é outra importante abordagem desenvolvida para processos de biorrefinaria, o uso de CO₂ para romper as paredes celulares da matriz celulósica bruta.

Como pode ser observado, os extratos obtidos quando utilizado água e as misturas água e etanol como solventes, apresentaram resultados estatisticamente maiores se comparado aos demais rendimentos de processo. Isso pode ser explicado devido a polaridade da água e do aumento que ela proporciona na mistura com etanol, se comparado com a polaridade do etanol isolado. O alto rendimento das extrações utilizando água como solvente pode estar relacionado à possível solubilização de carboidratos hidrossolúveis, como pectinas, mucilagens, gomas e hemiceluloses (BENELLI et al., 2010).

4.2 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS

Inicialmente as análises de conteúdo de fenólicos totais (CFT) e conteúdo de flavonoides totais (FT) foram realizadas como indicadores de compostos com atividade antioxidante. Na Tabela 7 são apresentados os resultados obtidos para os extratos de *S. rhombifolia* por diferentes técnicas de extração.

Tabela 7 – Teor de fenólicos e flavonoides totais dos extratos de *S. rhombifolia*

Método	Solvente	CFT (mg EAG g ⁻¹)	FT (mg EQ g ⁻¹)
SOX	HEX	5,33 ^g ± 0,91	17,03 ^{fg} ± 0,10
SOX	EtOH	79,33 ^a ± 0,61	67,57 ^a ± 2,91
SOX	H ₂ O	36,59 ^d ± 0,31	36,55 ^b ± 0,61
US	HEX	2,97 ^g ± 0,51	12,94 ^h ± 0,40
US	EtOH	54,25 ^c ± 0,81	23,48 ^{cd} ± 0,51
US	EtOH/H ₂ O (70:30)	62,31 ^b ± 0,31	26,18 ^c ± 0,41
US	H ₂ O	33,55 ^d ± 1,51	15,51 ^{gh} ± 0,51
ESC	20 MPa - CO ₂	13,72 ^f ± 0,41	20,06 ^{ef} ± 0,61
ESC	30 MPa - CO ₂	16,45 ^f ± 0,91	20,64 ^{de} ± 0,81
ESC	30 MPa - CO ₂ /EtOH 5%	26,53 ^e ± 1,51	22,87 ^{de} ± 0,30
ESC	30 MPa - CO ₂ /EtOH 10%	39,01 ^d ± 0,91	23,02 ^{de} ± 0,61

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Compostos fenólicos compõe um dos principais grupos de metabólitos secundários e seus precursores biossintéticos são metabólitos das vias das pentoses fosfato, chiquimato e fenilpropanóide (RANDHIR; LIN; SHETTY, 2004; VOGT, 2010). Os compostos fenólicos têm sido associados a benefícios para a saúde, incluindo prevenção e tratamento de vários tipos de doenças, como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade (CHACKO et al., 2010; ZHANG et al., 2015b). A obtenção destes compostos a partir de matrizes vegetais é dependente do meio reacional utilizado, sendo observado que o emprego de solventes com diferentes polaridades contribui para o isolamento destes compostos bioativos. Desse modo, é possível observar que em geral, os compostos fenólicos

são caracterizados como polares, apresentando os maiores níveis de solubilização em meios de maior polaridade.

A análise da Tabela 8 demonstra que a presença de solventes de maior polaridade permite a obtenção de resultados melhores, tanto para CFT como FT, quando comparado aos demais. A utilização de solventes como etanol e água, constituem um poderoso método de recuperação de compostos fenólicos, uma mistura favorece o aumento da polaridade do meio (BARRALES et al., 2018; PASQUEL REÁTEGUI et al., 2014; PEREIRA et al., 2016; VIGANÓ et al., 2016b). Nesse sentido são reportados na Tabela 8 os dados referentes apenas ao PLE.

Tabela 8 – Teor de compostos fenólicos totais e flavonoides totais para os extratos obtidos no método com líquido pressurizado

Temperatura (°C)	Solvente	CFT (mg EAG g ⁻¹)	FT (mg EQ g ⁻¹)
40	EtOH	32,18 ^f ± 1,11	20,57 ^d ± 1,21
	EtOH/H ₂ O (70:30)	52,33 ^{bc} ± 0,61	18,76 ^{de} ± 0,51
	EtOH/H ₂ O (50:50)	51,66 ^{bc} ± 0,71	17,84 ^{de} ± 0,41
	EtOH/H ₂ O (30:70)	32,18 ^f ± 1,11	23,27 ^c ± 0,41
	H ₂ O	35,89 ^{ef} ± 0,81	22,64 ^c ± 0,71
60	EtOH	32,72 ^f ± 1,30	19,34 ^{de} ± 0,91
	EtOH/H ₂ O (70:30)	55,01 ^b ± 2,31	19,41 ^{de} ± 0,91
	EtOH/H ₂ O (50:50)	50,22 ^c ± 1,90	18,91 ^{de} ± 0,51
	EtOH/H ₂ O (30:70)	32,72 ^f ± 1,31	23,73 ^c ± 0,21
	H ₂ O	38,43 ^{de} ± 1,41	25,8 ^b ± 0,51
80	EtOH	33,92 ^f ± 0,81	20,01 ^d ± 0,11
	EtOH/H ₂ O (70:30)	62,97 ^a ± 1,41	20,59 ^d ± 0,61
	EtOH/H ₂ O (50:50)	51,09 ^{bc} ± 0,31	19,75 ^d ± 0,60
	EtOH/H ₂ O (30:70)	33,91 ^f ± 0,81	25,84 ^b ± 0,71
	H ₂ O	41,99 ^d ± 0,40	28,41 ^a ± 0,70

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Os processos extrativos, não convencionais são rotas de obtenção de solutos ricos em compostos fenólicos, por justamente compreenderem os quesitos que propiciam melhores resultados de CFT de um substrato sólido utilizando solventes ambientalmente seguros. Esse comportamento é visto pela análise dos resultados, sendo que as extrações à 80 °C em PLE, demonstraram ser significativamente diferentes e o resultado de rendimento percentual foi obtido com a utilização a mistura de etanol e água (70:30) como solvente. O aumento da temperatura faz com que forças intermoleculares como ligações de hidrogênio, van der Waals e dipolo-dipolo sejam reduzidas. Assim, a energia de ativação para a dessorção de compostos extraíveis diminui. Deve-se considerar também que a viscosidade do solvente e a tensão superficial diminuem à medida que a temperatura

aumenta, o que favorece a penetração do solvente no substrato sólido (MACHADO et al., 2015; VIGANÓ et al., 2016b).

As misturas de solvente, água ao etanol aumentam o rendimento global de extração. As características do solvente determinam que tipo de composto pode ser dissolvido, em função do soluto conter polaridade similar (MUSTAFA; TURNER, 2011). Dessa forma, destacam-se o etanol e a água, os quais dissolvem compostos moderadamente polares e de alta polaridade, respectivamente. Na mistura destes dois solventes, em função da concentração e das condições às quais são submetidos, é possível dissolver compostos de polaridade moderada a alta (PEREIRA et al., 2016).

Estudos anteriores com *S. rhombifolia* e espécies do gênero *Sida*, não reportam o emprego do método PLE para a obtenção e caracterização dos extratos quanto à composição de fenólicos. Segundo Chaturvedi e Fulukani (2015), foram encontrados valores superiores de CFT, comparado aos demonstrados na extração de PLE deste estudo, no entanto foram empregados como solventes o metanol e clorofórmio. Considerando a utilização de solventes ambientalmente amigáveis, os resultados de CFT obtidos neste estudo, demonstram ser superiores aos relatados por Dhalwal e colaboradores (2005), os quais realizaram seus ensaios de quantificação de CFT em extratos obtidos a partir da maceração com a mistura de etanol e água (90:10). Portanto, PLE demonstrou ser efetivo na recuperação de compostos fenólicos e que atentam as premissas de segurança ao meio ambiente, no que diz respeito ao impacto gerado pela obtenção de extratos.

Os resultados obtidos para a determinação de flavonoides, seguem o comportamento descrito para CFT, destacando significativamente a extração utilizando água como solvente, onde foram obtidos os maiores valores para equivalente de quercetina nas amostras de *S. rhombifolia*, pelo método PLE e SOX, nesse último sendo superado apenas pela extração com etanol. Os dados obtidos corroboram com resultados descritos na literatura, onde é relatada presença de flavonoides nas espécies do gênero *Sida*, aos quais é atribuída função de defesa dos vegetais que os contém (ZUANAZZI; MONTANHA, 2007).

Dentro do gênero *Sida*, um grande número destes glicosídeos, como estão naturalmente presentes, mediante os resultados encontrados, correspondem aos valores de 12,94 a 67,57 mg EQ·g⁻¹ deste estudo. Por serem os flavonoides, compostos descritos como componentes responsáveis, em parte, pelos efeitos protetores de uma dieta rica em frutas e vegetais, têm despertado o crescente interesse da pesquisa em nutrição humana. São compostos classificados como polifenólicos, amplamente reportados as matérias-primas como chás, vinhos, café e cacau (DEL RIO et al., 2013).

Os resultados apresentados na Tabela 9 são muito promissores no que diz respeito à separação eficiente de duas frações da matéria-prima, no melhor uso do resíduo e agregando valor aos produtos obtidos. Como a abordagem de biorrefinaria, o processo compreende ESC ou Soxhlet com hexano seguido por PLE, dois extratos diferentes são obtidos: um com caráter não polar, enriquecido com lipídeo, e outro com caráter polar, enriquecido com fenólico. Como pode ser observado, os valores

de CFT foram maiores quando o ESC resíduo foi utilizado em comparação com o resíduo de Soxhlet. Além disso, o tempo de processo necessário para Soxhlet mais PLE foi de 6,3 h (6 h SOX + 20 min PLE), enquanto ESC mais PLE foram realizados em 2,3 h (2 h ESC + 20 min PLE).

Tabela 9 – CFT e FT dos extratos de *S. rhombifolia* obtidos por diferentes técnicas de extração

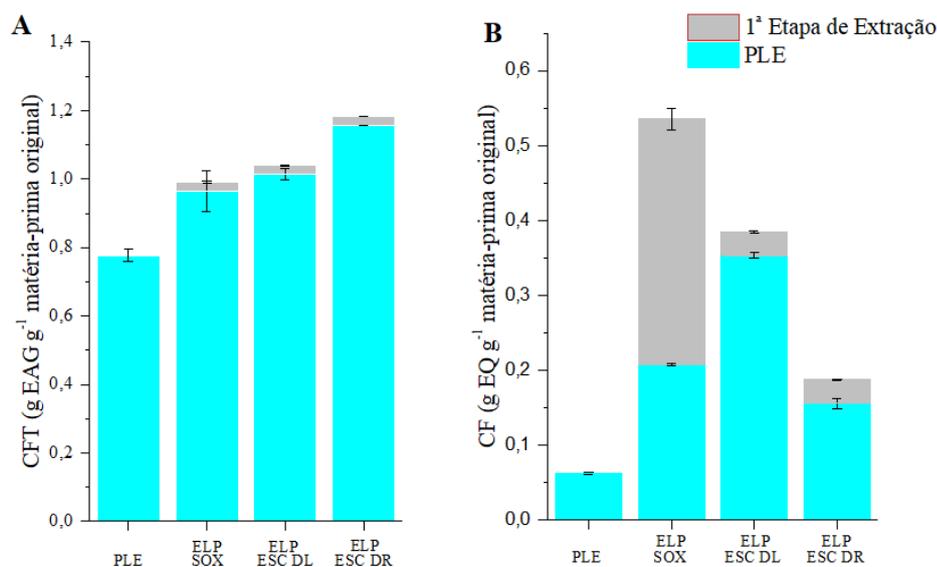
Ensaio	Método	Solvente*	Amostra**	CFT (mg GAE g ⁻¹)	FT (mg EQ g ⁻¹)
	SOX	HEX	Integral	5,33 ^e ± 0,91	10,57 ^a ± 0,10
	ESC	CO ₂	Integral	16,45 ^d ± 0,91	20,64 ^d ± 0,71
	US	EtOH/H ₂ O	Integral	62,31 ^c ± 0,31	26,18 ^b ± 0,50
	PLE	EtOH/H ₂ O	Integral	62,97 ^c ± 1,41	20,59 ^{d,e} ± 0,41
Integrado	PLE	EtOH/H ₂ O	Resíduo SOX	79,41 ^b ± 5,00	17,04 ^e ± 0,11
	PLE	EtOH/H ₂ O	Resíduo ESC DL	83,38 ^a ± 2,00	30,70 ^c ± 0,31
	PLE	EtOH/H ₂ O	Resíduo ESC DR	90,81 ^a ± 0,00	12,21 ^a ± 0,50

* – Mistura de Etanol e Água (70:30); ** – ESC DL: Despressurização Lenta. ESC DR: Despressurização Rápida. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

As taxas de despressurização na ESC (lenta e rápida) mostraram efeito significativo na recuperação de CFT para extratos de *Sida* ($p < 0,05$). Além disso, os valores de CFT nos extratos obtidos com PLE realizados com resíduos de ESC foram maiores do que quando se empregou matéria-prima integral. No final da extração ESC o CO₂ é expulso para fora das células, as quais estão saturadas com CO₂ e a despressurização súbita aplicada gera um gradiente de pressão através da parede celular (UQUICHE; MARTÍNEZ, 2016). A despressurização na ESC aumenta a difusão do solvente na extração da PLE ao romper ou danificar agregados e parede celular. Portanto, esse pode ser um passo muito importante para a extração de biomoléculas de fontes naturais, permitindo o uso de solventes mais leves e sustentáveis e melhorando o rendimento da extração.

Os efeitos benéficos dos flavonoides são atribuídos às suas capacidades antioxidantes e quelantes (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002). As taxas de despressurização do ESC (lenta e rápida) mostraram efeito significativo na recuperação da FT para *Sida* ($p < 0,05$). O maior valor de FT foi obtido na extração PLE com o uso do resíduo ESC com baixa taxa de despressurização (30,70 ± 0,3 mg EQ·g⁻¹). Como verificado para os valores de FT, a abordagem da biorrefinaria usando resíduos ESC e extração PLE proporcionou maior recuperação de FT (Figura 27). Os valores de FT obtidos são consistentes com o teor de flavonoides do gênero *Sida* relatado na literatura (DHALWAL et al., 2005).

Figura 27 – Conteúdo de fenólicos totais (A) e Conteúdo de Flavonoides (B) nos extratos obtidos pela integração de processos



Fonte: O autor

Os processos combinados foram realizados com solventes em ordem crescente de polaridade (CO₂ ou hexano menor que a mistura etanol / água). Como pode ser observado na Figura 27, a abordagem da biorrefinaria (ensaios realizados em duas etapas) mostrou que a integração dos processos, além de permitir o uso mais completo da matéria-prima, pode ser utilizada para aumentar a eficiência da extração da técnica PLE.

Os menores resultados dos extratos de CFT e FT de *S. rhombifolia* foram obtidos para PLE utilizando matéria-prima integral. Dois fatores principais parecem influenciar as diferenças entre os resultados dos experimentos de PLE: remoção do conteúdo lipídico na 1^a etapa (composição química) e ruptura da parede celular causada pela despressurização ou extração de Soxhlet (estrutura), aumentando a transferência de massa dos extrativos.

4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A avaliação das propriedades funcionais dos extratos de *S. rhombifolia*, a capacidade antioxidante foi fornecida pelos métodos DPPH e ABTS e os resultados são apresentados na Tabela 10. Levando em consideração características e aplicabilidade de cada método de avaliação da atividade antioxidante, atualmente reporta-se que a medida utilizando ambos métodos é a forma mais assertiva para determinar a capacidade antioxidante e irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (BADARINATH et al., 2016; KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009).

Como a atividade antioxidante de um composto pode apresentar resultados distintos com diferentes radicais, ele deve ser examinado por mais de um teste. Os valores de EC50 do ensaio de DPPH representam a concentração requerida para um antioxidante para eliminar 50% da concentração inicial de radicais livres de DPPH. Conseqüentemente, valores mais baixos de EC50 indicam maior atividade de eliminação de radicais livres. Enquanto os resultados de ABTS são expressos em equivalente de Trolox, observados pela degradação da coloração das amostras testadas e reporta a atividade antioxidante em função dessa equivalência, com maiores valores, maior também é a atividade atribuída a amostra.

Tabela 10 – Atividade antioxidante dos extratos de *S. rhombifolia*

Método	Solvente	DPPH EC 50 (mg mL ⁻¹)	ABTS (mmol TEAC g ⁻¹ extrato)
SOX	HEX	1,64 ^f ± 0,02	0,18 ^e ± 0,02
SOX	EtOH	1,66 ^f ± 0,03	3,22 ^a ± 0,08
SOX	H ₂ O	4,23 ^{cd} ± 0,31	0,14 ^e ± 0,01
US	HEX	4,47 ^{bcd} ± 0,51	0,16 ^e ± 0,03
US	EtOH	3,82 ^{de} ± 0,15	1,42 ^c ± 0,13
US	EtOH /H ₂ O (70:30)	3,29 ^e ± 0,01	2,37 ^b ± 0,13
US	H ₂ O	4,92 ^{ab} ± 0,36	0,11 ^e ± 0,01
ESC	20 MPa - CO ₂	4,72 ^{abc} ± 0,22	0,31 ^{de} ± 0,05
ESC	30 MPa - CO ₂	4,98 ^{ab} ± 0,02	0,36 ^{de} ± 0,01
ESC	30 MPa - CO ₂ /EtOH 5%	5,11 ^{ab} ± 0,11	0,38 ^{de} ± 0,01
ESC	30 MPa - CO ₂ /EtOH 10%	5,37 ^a ± 0,17	0,53 ^d ± 0,12

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Os extratos que apresentaram melhores resultados de atividade antioxidante foram obtidos pelos métodos de extração que favorecem a solubilidade de compostos fenólicos por índice de polaridade do solvente empregado. Observa-se que a utilização de etanol e sua mistura com água, representam as avaliações onde este fenômeno pode ter contribuído de forma significativa para os ensaios realizados. Os valores encontrados corroboram com os obtidos no estudo de Gupta et al (2016), que avaliaram a atividades antioxidante de extratos de *S. cordifolia*.

Os resultados da atividade antioxidante dos extratos obtidos nos experimentos de PLE estão apresentados na Tabela 11. Nas extrações, diferentes temperaturas foram avaliadas, fazendo com que as propriedades físicas dos solventes sejam modificadas, permitindo a recuperação de distintos compostos em função das condições empregadas. A possível variabilidade dos compostos recuperados nas extrações, apresentam também distintos resultados nos ensaios espectrofotométricos de atividade antioxidante determinado pelo método do radical ABTS e DPPH. As condições pelas quais as amostras são submetidas e seus resultados podem sugerir a formação de novos compostos

antioxidantes decorrentes das reações de Maillard, caramelização e termo-oxidação (PLAZA; TURNER, 2017).

Tabela 11 – Atividade antioxidante por DPPH e ABTS para os extratos obtidos por PLE

Temperatura (°C)	Solvente	DPPH EC 50 (mg mL ⁻¹)	ABTS (mmol TEAC g ⁻¹ extrato)
40	EtOH	5,97 ^{ef} ± 0,73	1,06 ^{gh} ± 0,04
	EtOH /H ₂ O (70:30)	2,48 ^g ± 0,31	1,18 ^{fgh} ± 0,18
	EtOH /H ₂ O (50:50)	7,64 ^e ± 0,29	1,07 ^{gh} ± 0,02
	EtOH /H ₂ O (30:70)	18,83 ^b ± 1,04	0,99 ^h ± 0,04
	H ₂ O	12,13 ^c ± 0,78	0,38 ± 0,02
60	EtOH	6,90 ^{ef} ± 0,21	1,23 ^{fg} ± 0,02
	EtOH /H ₂ O (70:30)	2,25 ^g ± 0,31	1,57 ^{bc} ± 0,13
	EtOH /H ₂ O (50:50)	6,51 ^{ef} ± 0,56	1,32 ^{def} ± 0,03
	EtOH /H ₂ O (30:70)	22,71 ^a ± 1,10	1,12 ^{fgh} ± 0,01
	H ₂ O	9,76 ^d ± 0,60	1,71 ^j ± 0,03
80	EtOH	5,57 ^f ± 0,21	1,51 ^{bcd} ± 0,07
	EtOH /H ₂ O (70:30)	1,09 ^g ± 0,01	2,85 ^a ± 0,01
	EtOH /H ₂ O (50:50)	2,12 ^g ± 0,39	1,71 ^b ± 0,03
	EtOH /H ₂ O (30:70)	19,17 ^b ± 0,78	1,40 ^{ede} ± 0,11
	H ₂ O	7,64 ^e ± 0,05	0,76 ⁱ ± 0,03

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Os resultados apresentados na Tabela 11 demonstram que a maior atividade antioxidante identificada foi observada na extração a 80 °C e utilizando a mistura de etanol e água (70:30). Comportamento que se repete em ambas técnicas de avaliação da atividade antioxidante, com valores de 1,09 mg·mL⁻¹ para DPPH e de 2,85 mmol TEAC·g⁻¹ para ABTS. Estes dados apresentaram valores maiores na avaliação de atividade antioxidante entre *S. rhombifolia* e *S. cordifolia*, conforme estudo de Gupta (2016).

Já na avaliação de integração de processos (Tabela 12), a atividade antioxidante apresentou comportamento diferente dependendo das condições de extração. Extratos obtidos por PLE com mistura etanol / água apresentaram maior atividade antioxidante em relação às demais extrações. Esse fato é atribuído à baixa solubilidade de compostos antioxidantes em CO₂, se comparado a mistura etanol / água. Além disso, a temperatura (80 °C) pode ter sido capaz de, não apenas aumentar a recuperação de antioxidantes presentes na amostra, mas também de permitir a geração de novos compostos antioxidantes (PLAZA et al., 2010). Esse fato, aliado ao processo de despressurização rápida, contribui à determinação das melhores rotas de extração para obtenção de uma alternativa ao aditivo sintético terc-butilhidroquinona (BHT). Sendo o PLE e PLE ESC DR, os extratos que compõem atividade antioxidante similar, mas obtidos por métodos ambientalmente seguros.

Tabela 12 - Atividade antioxidante por DPPH e ABTS para os extratos obtidos na integração de processos

Ensaio	Método	Solvente ^a	Amostra ^b	DPPH EC ₅₀ (mg mL ⁻¹)	ABTS (mmol TEAC g ⁻¹ extrato)
	SOX	HEX	Integral	1,64 ^e ± 0,02	0,18 ^f ± 0,01
	ESC	CO ₂	Integral	4,98 ^a ± 0,02	0,36 ^f ± 0,01
	US	EtOH/H ₂ O	Integral	3,29 ^b ± 0,01	2,4 ^d ± 0,30
	PLE	EtOH/H ₂ O	Integral	1,09 ^c ± 0,04	2,8 ^c ± 0,05
Integrado	PLE	EtOH/H ₂ O	Resíduo SOX	1,66 ^e ± 0,02	1,56 ^e ± 0,05
	PLE	EtOH/H ₂ O	Resíduo ESC DL	2,47 ^f ± 0,08	3,8 ^a ± 0,30
	PLE	EtOH/H ₂ O	Resíduo ESC DR	1,91 ^d ± 0,04	4,3 ^b ± 0,02
	BHT			0,31 ^g ± 0,04	7,70 ^a ± 0,02

* – Mistura de Etanol e Água (70:30); ** – ESC DL: Despressurização Lenta. ESC DR: Despressurização Rápida. Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Os resultados indicam que o extrato de *S. rhombifolia* obtido por PLE com matéria-prima integral apresenta a maior capacidade antioxidante medida pelo ensaio DPPH ($1,09 \pm 0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$), enquanto o PLE com ESC reduz a capacidade antioxidante medida pelo ensaio ABTS ($4,3 \pm 0,02$). Embora os compostos fenólicos sejam os principais antioxidantes naturais, eles não são a única classe de substâncias que contribuem para o desempenho antioxidante dos produtos naturais (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002). Para uma melhor compreensão da inter-relação entre a atividade antioxidante e o CFT, foi realizado o teste de correlação de Pearson. A melhor correlação foi encontrada entre ABTS e conteúdo fenólico total que apresentou valor de coeficiente de correlação de 0,884. A inter-relação entre o DPPH e o CFT apresentou correlação fraca, com valores de -0,377, podendo ser atribuída que outros componentes, além de substâncias fenólicas, influenciaram o potencial antioxidante dos extratos de *S. rhombifolia*.

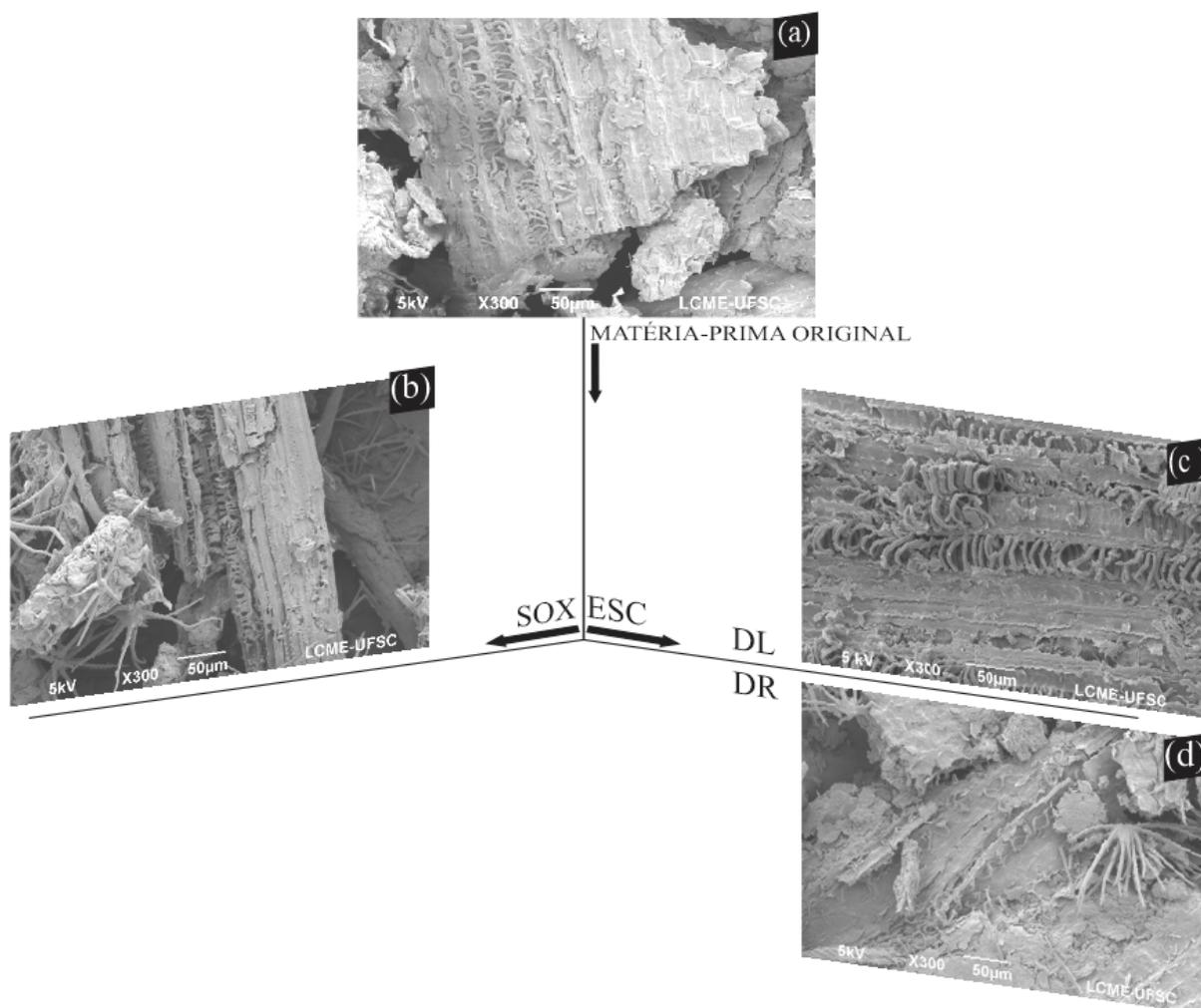
As taxas de despressurização do ESC (lenta e rápida) apresentaram efeito significativo no desempenho antioxidante ($p < 0,05$). A taxa rápida de despressurização do ESC forneceu extratos com maior atividade antioxidante. Dados da literatura mostram uma dependência da densidade de CO₂ na despressurização e ruptura da parede celular. Quando a densidade de CO₂ aumenta, a quantidade líquida de gás absorvida nas células aumenta e, por sua vez, aumenta a força causada pela rápida despressurização. Como resultado, ocorre a ruptura das paredes celulares quando o CO₂ retorna ao estado gasoso devido à rápida despressurização (KHOSRAVI-DARANI et al., 2004; UQUICHE; MARTÍNEZ, 2016).

4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As imagens obtidas com MEV das folhas de *S. rhombifolia*, são apresentadas pela ordem: (A) matéria-prima integrada; (B) após a extração de Soxhlet; (C) após fluxo lento de despressurização de

ESC; e (D) após fluxo rápido de despressurização ESC. Após a extração com Soxhlet e ESC (Fig. Figura 28B, Figura 28C e Figura 28D), a superfície foi completamente modificada quando comparada à matéria-prima original. Como demonstra a Figura 28D, foi observada a presença de alguns tricomas. Essas observações estão de acordo com aquelas previamente descritas por Alber e Victoria Filho (2002). Quanto às folhas submetidas à ESC, os tricomas pareciam ser erodidos pela despressurização do ESC (Figura 28D), o que pode ser atribuído aos efeitos da despressurização no sistema ESC, realizado previamente a este ensaio. Esse comportamento pode ser observado nas imagens da Figura 28.

Figura 28 - Imagens MEV de *S. rhombifolia* com uma ampliação de 1000x: (A) matéria-prima original; (B) após a extração de Soxhlet; (C) após fluxo lento de despressurização de ESC; e (D) após fluxo rápido de despressurização ESC.



Fonte: O autor

Como pode ser observado, a vazão de despressurização rápida do ESC causou a maior ruptura da estrutura, com o comportamento semelhante de uma explosão. As imagens de MEV corroboraram os resultados e interpretações das seções anteriores (rendimento global de extração, teor fenólico total

e atividade antioxidante). Além disso, pode-se afirmar que os resultados do estudo da extração PLE dos resíduos ESC e SOX foram relacionados com as modificações estruturais na matéria-prima, que foram causadas pelas diferentes condições das primeiras extrações.

4.5 ANÁLISE HPLC-ESI-MS/MS

Cromatografia líquida de alta performance (HPLC) acoplada a espectrometria de massa (MS) (AMAROWICZ et al., 2010; ZHANG et al., 2015a) tem sido amplamente usada para a análise de polifenóis em leguminosas (OJWANG et al., 2013). Os resultados do perfil fenólico dos extratos de *S. rhombifolia* obtidos por diferentes técnicas de extração e apresentado na Tabela 13.

Dentre os 46 fenólicos testados, um total de 31 foram detectados em todas as amostras, predominantemente compostas por ácidos fenólicos e flavonoides, embora outras classes fenólicas também tenham sido detectadas. O PLE realizado com matéria-prima, o resíduo ESC DR e o resíduo SOX foram os mais ricos, produzindo um total de 30 compostos identificados, seguido de perto por PLE com resíduo ESC DL com 29 compostos e US com 27 fenólicos. Por outro lado, o SOX realizada com hexano apresentou 8 compostos identificados e a ESC com CO₂ supercrítico apresentou 11 compostos fenólicos identificados.

A análise da Tabela 13 evidencia uma diferença significativa na recuperação de compostos fenólicos para as extrações com solventes polares (mistura etanol / água) em contraste com aqueles em que se utilizou solventes não polares (CO₂ supercrítico e hexano). Além disso, é possível observar que a extração com CO₂ supercrítico permitiu obter extratos mais ricos em compostos fenólicos do que a extração SOX com hexano. Estes resultados estão de acordo com os valores de CFT (Tabela 13).

Tabela 13 – Perfil fenólico dos extratos de *S. rhombifolia* (mg·g⁻¹ de amostra) obtidos por diferentes técnicas de extração.

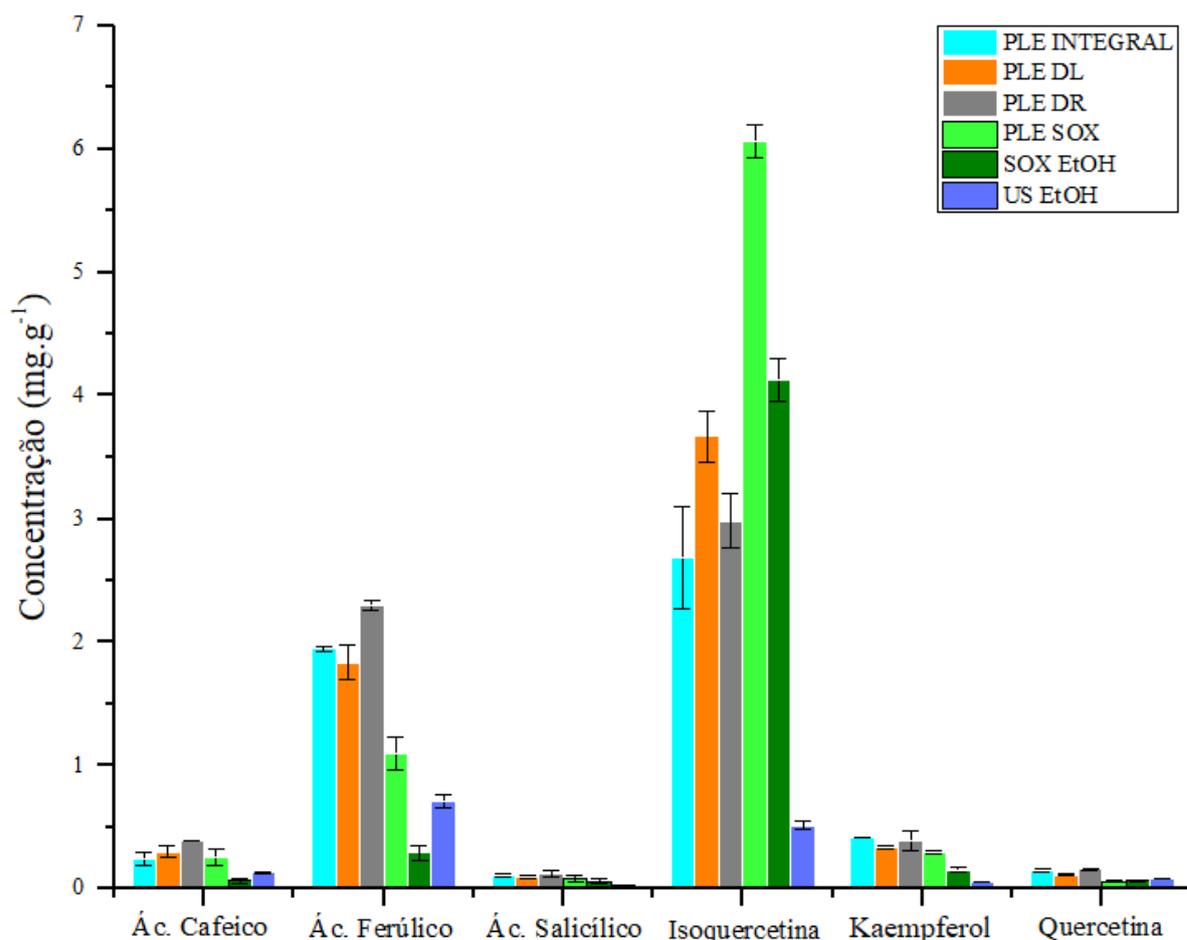
	ESC CO ₂	SOX HEX	PLE			US EtOH		
			Matéria-prima integral	Resíduo ESC DL	Resíduo ESC DR		Resíduo SOX	
Ác. Fenólicos								
1	3,4 Ác. dihidroxibenzoico	0,0036 ^b ± 0,01	0,08 ^a ±0,01	0,0079 ^a ±0,01	0,0072 ^a ±0,01	0,0079 ^a ±0,01	0,0086 ^a ±0,01	0,0094 ^a ± 0,01
2	4- Ác. aminobenzoic acid	nd	nd	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
3	4- Ac. hidroximetilbenzoico	0,0069 ^c ± 0,01	0,0187 ^a ±0,01	0,0179 ^a ±0,01	0,0191 ^a ±0,01	0,018 ^a ±0,00	0,0212 ^a ±0,01	0,024 ^a ±0,01
4	Ác. caféico	<LOQ	nd	0,6523 ^{ab} ±0,15	0,8745 ^a ±0,14	1,0064 ^a ±0,01	0,7069 ^a ±0,20	0,7092 ^a ± 0,02
5	Ác. clorogênico	0,0038 ^b ± 0,00	0,0092 ^a ±0,01	0,0619 ^{ab} ±0,01	0,0588 ^{ab} ±0,05	0,1343 ^a ±0,01	0,0914 ^a ±0,01	0,0136 ^b ± 0,01
6	Ác. elágico	nd	nd	0,2818 ^a ±0,02	0,1067 ^b ±0,01	0,3384 ^a ±0,04	<LOQ	0,2054 ^a ±0,05
7	Ác. ferúlico	nd	nd	4,6931 ^a ±0,04	4,7443 ^a ±0,36	3,9259 ^{ab} ±2,12	2,7042 ^{ab} ±0,32	3,9049 ^{ab} ± 0,27
8	Ác. gálico	<LOQ	<LOQ	0,0213 ^a ±0,01	0,0184 ^a ±0,01	0,0276 ^a ±0,01	0,0202 ^a ±0,01	<LOQ
9	Ác. metoxifenilacetico	<LOQ	<LOQ	0,1361 ^a ±0,08	<LOQ	0,1146 ^a ±0,01	0,0691 ^a ±0,04	0,1417 ^a ± 0,01
10	Ác. p-Cumárico	nd	nd	0,1290 ^{ab} ±0,01	0,1875 ^{ab} ±0,04	0,2069 ^a ±0,03	0,1444 ^{ab} ±0,05	0,1475 ^{ab} ± 0,01
11	Ác. salicílico	nd	nd	0,2942 ^a ±0,04	0,2754 ^a ±0,03	0,3057 ^a ±0,07	0,2308 ^a ±0,06	0,1223 ^b ± 0,01
12	Ác. sinápico	nd	nd	0,0094 ^a ±0,02	0,0098 ^a ±0,01	<LOQ	0,0069 ^a ±0,01	0,0044 ^a ± 0,01
13	Ác. siríngico	nd	nd	0,0115 ^a ±0,01	0,0067 ^{ab} ±0,01	0,0095 ^{ab} ±0,01	0,0052 ^a ±0,01	0,0106 ^a ± 0,00
14	Ác. vanílico	0,0147 ^c ± 0,01	0,0407 ^{bc} ±0,01	0,1617 ^a ±0,03	0,1106 ^a ±0,02	0,1223 ^a ±0,01	0,1375 ^a ±0,01	0,1688 ^a ± 0,03
Flavonoides								
15	Epicatequina	nd	nd	<LOQ	<LOQ	0,0042 ^a ±0	0,0043 ^a ±0	<LOQ
16	Hispidulina	nd	nd	0,0048 ^b ±0,01	0,0065 ^a ±0,01	0,0059 ^a ±0,01	0,0012 ^b ±0,01	0,0013 ^b ± 0,00
17	Isoquercetina	0,1376 ^d ± 0,02	nd	7,2494 ^c ±1,12	10,634 ^{bc} ±0,60	7,8018 ^{bc} ±0,57	16,626 ^a ±0,36	2,8272 ^d ± 0,19
18	Isorientina	nd	nd	<LOQ	nd	nd	<LOQ	nd
19	Kaempferol	nd	nd	1,1231 ^a ±0,01	0,9644 ^a ±0,04	1,0264 ^a ±0,22	0,8025 ^{ab} ±0,03	0,3013 ^b ± 0,01
20	Miricetina	0,0094 ^c ± 0,01	0,0239 ^c ±0,01	0,1017 ^a ±0,01	0,0923 ^a ±0,01	0,1083 ^a ±0,01	0,0939 ^a ±0,01	0,0456 ^b ± 0,01
21	Naringenina	nd	nd	Nd	0,0009 ^a ±0,01	0,0006 ^a ±0,01	<LOQ	0,0007 ^a ± 0,01
22	Quercetina	nd	nd	0,3961 ^a ±0,03	0,3244 ^{ab} ±0,03	0,4122 ^a ±0,03	0,1702 ^b ±0,03	0,4291 ^a ± 0,01
23	Rutina	nd	nd	0,0661 ^d ±0,01	0,1058 ^b ±0,01	0,0642 ^d ±0,01	0,1552 ^a ±0,01	0,0135 ^c ± 0,01
24	Taxifolina	nd	nd	0,0036 ^a ±0,01	0,0039 ^a ±0,01	0,0043 ^a ±0,01	0,0058 ^a ±0,01	nd
25	Vitexina	<LOQ	<LOQ	0,0318 ^a ±0,01	0,0550 ^a ±0,01	0,0075 ^a ±0,01	<LOQ	0,0305 ^a ±0,01

Aldeídos fenólicos								
26	Coniferaldeído	nd	nd	0,1205 ^a ± 0,06	0,1098 ^a ± 0,02	0,1213 ^a ± 0,01	0,0973 ^a ± 0,01	0,1037 ^a ± 0,03
27	Sinapaldeído	nd	nd	0,0029 ^a ± 0,01	0,0032 ^a ± 0,01	0,0044 ^a ± 0,01	<LOQ	nd
28	Siringaldeído	0,0376 ^a ± 0,06	nd	0,0114 ^a ± 0,00	nd	<LOQ	nd	nd
29	Vanilina	nd	nd	0,0199 ^a ± 0,01	0,0129 ^a ± 0,01	0,0136 ^a ± 0,01	0,0175 ^a ± 0,01	0,0184 ^a ± 0,01
Cumarina								
30	Escopoletina	nd	nd	0,0083 ^a ± 0,01	0,0092 ^a ± 0,01	0,0073 ^a ± 0,01	0,0054 ^a ± 0,01	0,0022 ^a ± 0,01
31	Umbeliferona	nd	nd	0,1985 ^a ± 0,01	0,2528 ^a ± 0,02	0,1435 ^{ab} ± 0,01	0,1282 ^{ab} ± 0,08	0,0429 ^b ± 0,01

<LOQ – Não quantificável. Resultados com mesma letra por linha não apresentam diferença estatística (t-test, $p < 0,05$). nd - não detectado. Informações referentes aos parâmetros de análise e tratamento dos dados podem ser observados no Apêndice B.

Os dados obtidos e apresentados na Tabela 13, quando correlacionados com os percentuais de rendimento de *S. rhombifolia* para as diferentes técnicas de extração, permitem quantificar os compostos por grama de amostra, mediante uso de padrões. Conforme estudos de Sousa (2016) e Kumar (2012), os resultados foram expressos em $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para a concentração de polifenóis e Rao et al (2011) e Zhang et al (2012), expressaram em $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Ambas as formas de quantificação dos dados são de fato muito importantes para projetar módulos de extração e devem ser sempre relatados em conjunto. Tendo em vista as maneiras de expressar os resultados de quantificação, a correlação se estende ao percentual de rendimento visto cada processo extrativo. Dessa forma, essa correlação direta ao rendimento de extrato obtido de *S. rhombifolia*, permite maximizar a compreensão de proporcionalidade dos principais compostos identificados, conforme indica a Figura 29

Figura 29 – Compostos fenólicos de maior abundância nos extratos de *S. rhombifolia* obtidos por diferentes extrações



Fonte: O autor

Ácido ferúlico exibe ampla variedade de atividades biológicas, tais como antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antialérgica, hepatoprotectora, anticarcinogênica, antitrombótica, aumentar a viabilidade do esperma, ações antivirais e vasodilatadoras, agente quelantes de metal, modulação da atividade da enzima, ativação de fatores de transcrição, expressão do gene e de sinal transdução. Com base nisso, tem sido proposto como um tratamento potencial para muitos distúrbios, incluindo doença de Alzheimer, câncer, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e doenças de pele (KUMAR; PRUTHI, 2014; MANCUSO; SANTANGELO, 2014).

O Kaempferol é um flavonol natural presente em diferentes espécies de plantas, que é considerado um valioso ingrediente alimentar funcional com uma ampla gama de aplicações terapêuticas, como anticarcinogênico, antioxidante e anti-inflamatório. O Kaempferol atua em uma gama de alvos intracelulares e extracelulares envolvidos nas vias de sinalização celular que, por sua vez, são conhecidas por regular as marcas de progressão do crescimento do câncer, como apoptose, ciclo celular, invasão ou metástase, angiogênese e inflamação (DEVI et al., 2015; KASHYAP et al., 2017).

Comparando os resultados de compostos fenólicos da PLE realizados com resíduos de ESC (Tabela 9), é possível verificar que para a maioria dos compostos fenólicos detectados não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na sua quantidade quando utilizou-se taxas de despressurização lenta e rápida (DR e DL, respectivamente). No entanto, o extrato de ESC DR apresentou maior conteúdo de ácido elágico (6), ácido metoxifenilacético (9) e siringaldeído (28), enquanto para o extrato ESC DL o maior conteúdo encontrado foi de ácido sinápico (12) e rutina (23).

Os resultados apresentados na Tabela 9 e na Tabela 13 sugerem que ESC DR pode ser usado como uma estratégia para aumentar a recuperação do conteúdo fenólico de folhas de *S. rhombifolia* na extração PLE, desde extratos ricos em compostos fenólicos e com maior rendimento de extração do que a naquela onde a taxa de despressurização em ESC foi lenta.

Um maior número de compostos fenólicos em *S. rhombifolia* foi encontrado no presente trabalho quando comparado a outros estudos. Chaves et al. (2017) identificou nove compostos a partir de partes aéreas de *S. rhombifolia*: escopoletina, scoparone, etoxi-ferulato, campferol, campferol 3-O- β -D-glicose-6" - a-D-ramnose, quindolinone, 11-metoxi -quindolina, quindolina e sal de criptolepina. Embora a isoquercetina tenha sido encontrada em grande quantidade em nosso estudo, não é identificada por Chaves et al. (2017). Isso pode ser causado principalmente por diferenças na técnica de extração e solvente, bem como na metodologia utilizada para a identificação e quantificação dos compostos fenólicos.

As técnicas de extração combinadas com a análise LC-ESI-MS/MS, permitiram a identificação de 21 fenólicos que estão sendo reportados pela primeira vez para a *S. rhombifolia*, que é o ácido 3,4-di-hidroxibenzoico (1), 4 ácido aminobenzoico (2), 4-hydroxymethylbenzoic ácido (3), ácido caféico (4), ácido elágico (6), ácido gálico (8), ácido metoxifenilacético (9), p-cumárico ácido (10), ácido siríngico (13), epicatchin (15), hispidulina (16), isorentin (18), miricetina (20), naringenina (21), taxifolina (24), vitexina (25), coniferaldeído (26), sinapaldeído (27), siríngaldeído (28), vanilina (29) e umbeliferona (31).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

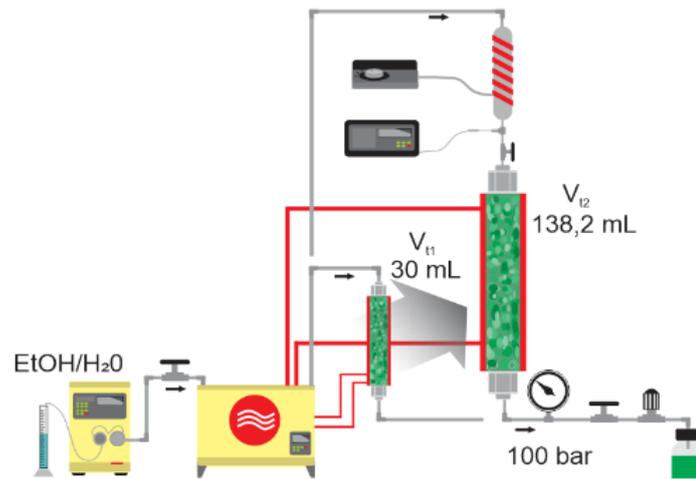
Neste capítulo os dados obtidos a partir da matéria-prima *S. rhombifolia*, para a obtenção de extratos bioativos demonstram serem promissores. Nas extrações realizadas com solventes mais polares (etanol ou mistura de água e etanol) em PLE, Soxhlet e Ultrassom foram obtidos extratos com melhores rendimentos em comparação as extrações realizadas com CO₂ supercrítico.

O maior rendimento de extração para *S. rhombifolia* ($12,34 \pm 0,3\%$) foi obtido por PLE com a mistura de etanol/água (70/30 v/v). Os extratos apresentaram um alto conteúdo de compostos fenólicos e forte atividade antioxidante, especialmente quando utilizados solventes de maior polaridade, e ao método PLE. A avaliação da atividade antioxidante, frente ao sintético BHT, demonstrou bons resultados que podem contribuir para a adoção dos extratos de *S. rhombifolia* como uma possível alternativa aos produtos comumente utilizados nos processos industriais atuais.

No que diz respeito à abordagem de biorrefinaria realizada para recuperar diferentes frações de *S. rhombifolia*, os resultados demonstram que foi eficaz para maximizar o uso de matéria-prima. Além disso, os dados indicam que os processos integrados a jusante podem ser usados para aumentar a eficiência de extração da técnica PLE. Análises MEV mostraram que as extrações ESC e SOX causaram a ruptura da parede celular da matéria-prima, melhorando a eficiência da extração PLE.

A maior capacidade antioxidante medida pelo método ABTS para *S. rhombifolia* foi obtida no PLE com resíduo de taxa de despressurização rápida de ESC ($4,3 \pm 0,02$ mmol TE g⁻¹ de extrato). Os resultados indicam um processo de abordagem de biorrefinaria como um método promissor para fornecer duas frações importantes da matéria-prima, um extrato enriquecido com lipídios (da etapa ESC ou SOX) e um produto rico em antioxidantes (da etapa PLE).

O delineamento do perfil fenólico mediante análise de HPLC, permitiu a identificação de compostos que até então, não possui relatos de ocorrência em extratos de *S. rhombifolia* na literatura. Além disso, contribuiu para a confirmação de que estes compostos, quantificados para os extratos estudados, possuem alta capacidade antioxidante, destacando a isoquercetina com valores significativamente distintos aos demais compostos identificados.



CAPÍTULO IV

ESTUDO DE AMPLIAÇÃO DE ESCALA NA EXTRAÇÃO LÍQUIDA PRESSURIZADA DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE *S. rhombifolia*

1 INTRODUÇÃO

A extração de compostos de alto valor agregado a partir de matrizes naturais, fazendo uso de solventes alternativos, os quais compreendem o conceito de aplicação de tecnologias ditas verdes, ou ambientalmente amigáveis, tem sido assunto de investigações acerca da obtenção de compostos bioativos. Nesse sentido o estudo elucidado no Capítulo III revela os benefícios intrínsecos da *S. rhombifolia*, no que diz respeito principalmente à composição em compostos fenólicos, os quais correspondem à característica de atividade antioxidante.

Segundo dados do Capítulo III, a Extração com Líquido Pressurizado (PLE) representou o processo extrativo que melhor correspondeu às atividades bioativas descritas. A utilização de processos a alta pressão requer estruturas robustas e controladas, no entanto possibilitam a recuperação seletiva de compostos. Visando maximizar o potencial desse recurso e favorecendo a implantação de tecnologias inovadoras, a otimizando das operações envolvidas representam um estreitamento entre pesquisa e implantação industrial.

Sob o conceito de processamento verde, são claras as vantagens das técnicas apresentadas neste estudo, desse modo, viabilizar maiores informações pertinentes ao aumento de escala de produção, torna possível estreitar a viabilização do extrato para posteriores aplicações industriais. O estudo de ampliação de escala requer a adequação do aparato experimental para gerar resultados com confiabilidade. Para a realização dos ensaios de maior escala algumas abordagens, como análise dimensional, teoria de similaridade e modelos matemáticos são adotadas para prever os parâmetros de processo (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009).

Até o momento, o emprego de processos a alta pressão aplicados a matéria-prima *S. rhombifolia* e estudos de aumento de escala, até onde sabe-se, são desconhecidos ou não relatados anteriormente. Neste estudo, o objetivo foi avaliar o processo de escalonamento de extração com líquido pressurizado (PLE), possibilitando validar essa otimização de processo, sob parâmetros de similaridade cinética dinâmica e simulação matemática por meio de diferentes modelos que descrevem a transferência de massa em processos extrativos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AMPLIAÇÃO DE ESCALA

O desenvolvimento tecnológico tem contribuído para ações relacionadas as preocupações de impacto ambiental, seja quanto à reutilização de resíduos oriundos de processo primários, bem como na possibilidade de desvendar novas matérias-primas, explorando todo seu potencial. Nesse contexto, a agregação de valor ao produto é resultado de um trabalho que tem como principais vantagens a utilização de solventes não tóxicos e / ou GRAS e obtenção de produtos de alta pureza, em virtude da utilização de processos não convencionais, como exemplo, técnicas de extração à alta pressão.

Diferente das técnicas tradicionais de extração, que requerem longos períodos de processo em temperatura relativamente alta, grandes quantidades de solventes e apresentam baixa eficiência, os métodos propostos sugerem ser alternativas que atendem ao esforço para superar esses problemas. São métodos inovadores de extração de crescente investigação nos últimos anos.

A recuperação de compostos fenólicos oriundos de matérias-primas vegetais, tem despertado o interesse principalmente aos setores de alimentação e farmacêuticos. Estes compostos possuem a característica de atuar nas reações de oxidação, retardando e/ou eliminando esse que é um grande problema para a indústria de alimentos, especialmente em produtos ricos em ácidos graxos insaturados, os quais promovem perdas de qualidade e menor prazo de validade (GÜLÇIN, 2012).

A extração de compostos fenólicos a partir de *S. rhombifolia* utilizando o método PLE demonstrou bons resultados, conforme avaliação descrita no Capítulo III. Apesar das claras vantagens das técnicas de alta pressão sobre as técnicas convencionais de extração de polifenóis, ainda existem fatores limitantes que dificultam a aplicação dessa técnica em escala industrial. Para tanto a otimização do processo extrativo é um passo fundamental para a obtenção de substâncias bioativas, no entanto exige adequação das variáveis que influenciam a extração, bem como processos bem estabelecidos, mas de grande importância para a indústria (AZMIR et al., 2013).

As unidades de extração a alta pressão, seja em pequena ou larga escala, exigem alto investimento, em função da robustez necessária para desempenhar os ensaios. Para o aumento de escala podem ser adotadas diferentes abordagens, como análise dimensional, teoria da similaridade e predição com uso de modelos matemáticos, com o objetivo de prever o

comportamento dos processos de extração em maior escala, a fim de definir parâmetros de processo, como dimensões do equipamento ou vazão do solvente (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009).

Ensaio realizados em pequena escala permitem aferir as melhores condições de processo. Desse modo, é possível mensurar os melhores parâmetros de processo, os quais tem fundamental importância para a realização da ampliação de escala. (BERNA et al., 2000; MUÑOZ; ELIZALDE; ANCHEYTA, 2007). Os ensaios em pequena escala são utilizados para realizar uma varredura em diferentes pressões, temperaturas e solventes, e em seguida a obtenção de dados termodinâmicos e cinéticos (SOVOVÁ, 2005).

O aumento de escala de extração, está condicionado à manutenção das características do processo, para tanto parâmetros como grupos adimensionais e critérios de similaridade, podem identificar os fatores mais influentes e limitantes do processo. Um simples critério de escalonamento pode basear-se em manter constantes fatores geométricos e dinâmicos (CASAS et al., 2009). Alguns critérios dinâmicos convenientes são baseados em manter constantes as razões de massa de solvente para alimentação, m_s / M e/ou Q_m / M , onde M é a massa de alimentação usada para cada extrator, m_s é a massa total de solvente e Q_m é o fluxo de massa (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009), bem como um critério mais complexo, $Q_m \cdot d / M$, que inclui o diâmetro dos extratores (d) (MOURA et al., 2005).

Para a condição de igualdade dos extratos e de sua composição em PLE, o processo em escala ampliada deve seguir as premissas obtidas em pequena escala. Conforme descrevem Santos et al (2012) e Osorio-Tobón et al (2014), para que os resultados fossem os mesmos entre a produção em menor e maior escalas, as mesmas condições de processamento (temperatura, pressão, relação diâmetro e altura do leito, porosidade do leito, etc.) devem ser seguidas.

O escalonamento de extração para PLE é um passo importante na obtenção de compostos de interesse, no entanto, até o momento se tem conhecimento de poucos estudos que reportam essa técnica. Relatos pertinentes ao aumento de escala dão conta que a técnica é baseada em evidências e modelos experimentais, e mesmo atualmente, o escalonamento continua sendo feito com base, em parte, na experiência. Sendo esta experiência mais um fator para se tomar como ferramenta de auxílio a utilização de modelos e correlações empíricas (MUÑOZ; ELIZALDE; ANCHEYTA, 2007).

2.2 MODELAGEM MATEMÁTICA

A modelagem matemática de dados experimentais é comumente utilizada na área da engenharia e com aplicações mais específicas, ocasionando maiores investigações e criação de modelos, como exemplo os que representam as cinéticas de extração de leitos empacotados de matrizes sólidas (DEL VALLE; DE LA FUENTE, 2006; OLIVEIRA; SILVESTRE; SILVA, 2011). Modelos matemáticos tentam não apenas fornecer uma interpretação quantitativa dos dados experimentais, e prever valores reais dos parâmetros que são fisicamente significativos, mas também fornecer dados em pontos onde as medições não são realizadas (HUANG; SHI; JIANG, 2012).

Modelagens de processos extrativos com fluidos pressurizados a partir de matrizes vegetais como ervas, sementes, folhas ou cascas são complexas em função das diferentes estruturas no material. Normalmente, o material é triturado para aumentar a área de superfície em contato com o solvente e também aumentar a acessibilidade do soluto dentro das estruturas celulares, aumentando assim a cinética de transferência de massa. Isso permite a descrição das partículas resultantes usando as geometrias básicas, como placa, cilindro ou esfera. Para reduzir a complexidade do modelo, também faz-se necessário, suposições simplificadoras sobre como o soluto, permitindo maior compreensão dos mecanismos envolvidos nas cinéticas de transferência de massa, resistências de transferência de massa interna, resistências de transferência de massa externa ou uma combinação de várias resistências (OLIVEIRA; SILVESTRE; SILVA, 2011).

Modelos matemáticos são ferramentas que auxiliam a compreensão fenomenológica de diferentes processos, corroborando com a predição e validação dos resultados em função dos parâmetros previamente estabelecidos. De modo geral, a modelagem objetiva determinar os parâmetros ajustáveis dos modelos a partir de dados experimentais, a fim de que estes sejam mantidos constantes na transposição de escala para, então, se obter o design do processo em maior escala, como dimensão de equipamento, vazão de solvente, tamanho de partícula (MARTÍNEZ et al., 2003).

A modelagem matemática para técnicas de extração é considerada uma importante ferramenta usada para definir as condições ótimas de extração. Continuamente a investigação acadêmica confere mais dados de literatura, enfatizando a importância de ferramentas de modelagem matemática para a otimização do processo de extração (GRANATO et al., 2018; PUTNIK et al., 2018).

Em processos de extração a alta pressão, alguns modelos de transferência de massa têm sido usados para ajustar dados obtidos, principalmente para a técnica de ESC e também ESC com co-solventes, utilizando principalmente o modelo de Sovová (BERMEJO et al., 2016; TALANSIER et al., 2008; TRABELSI et al., 2016). Esses modelos já existentes, desenvolvidos para ESC podem também auxiliar na predição de processos extrativos com líquidos pressurizados (PLE), (FERNÁNDEZ-PONCE et al., 2016).

Conforme relatam Huang, Shi e Jiang (2012) os estudos de modelagem matemática são de grande importância, pois podem permitir generalizar as observações experimentais dos sistemas estudados para otimizar as condições do processo ou estender-se a novos sistemas além dos pesquisados. Posteriormente, esses trabalhos de modelagem podem ser quantitativa e qualitativamente úteis na promoção do desenvolvimento de procedimentos de ampliação para quaisquer aplicações de extração subsequentes. Além disso, o conhecimento do mecanismo de transferência de massa e parâmetros cinéticos juntamente com restrições termodinâmicas poderia ser usado para avaliar economicamente o processo de extração de laboratório para escala piloto e industrial. Enquanto isso, a compreensão de várias variáveis de processo e como elas podem ser conectadas a um modelo teórico para descrever a cinética de extração também pode ser obtida. Por esses motivos, muitos modelos matemáticos para SFE foram propostos e desenvolvidos, conforme resumido em dois artigos de revisão recentes (DEL VALLE; DE LA FUENTE, 2006; OLIVEIRA; SILVESTRE; SILVA, 2011).

2.2.1 Modelo de Sovová

O modelo desenvolvido por Sovová (SOVOVA, 1994) descreve um extrator semi-contínuo no qual uma corrente de solvente flui axialmente através de um leito de substrato poroso com uma velocidade superficial constante. Supõe-se que as partículas sólidas contêm dois tipos de solutos: (1) soluto inacessível que é depositado nas células vegetais e representa a transferência de massa interna (mecanismo de difusão) e (2) soluto acessível que está na superfície externa das partículas ou em paredes celulares rompidas após um processo de pré-tratamento (por exemplo, moagem), representando assim a transferência de massa externa (mecanismo de convecção).

O modelo de Sovová (1994), descreve os processos de transferência de massa, na situação de leito fixo em que o solvente flui axialmente com a velocidade superficial “U” através de um leito de material vegetal acondicionado em um extrator cilíndrico. Inicialmente o solvente é livre de solutos na entrada do extrator, e a temperatura e a pressão são consideradas constantes.

O leito sólido é homogêneo em relação ao tamanho da partícula e à distribuição inicial do soluto. O soluto é o produto dos processos de extração, obtido mediante rompimento das paredes celulares da matriz vegetal, num primeiro momento, disponível em função do processo de moagem ao qual a amostra é submetida e já formando o leito de extração diretamente exposta ao solvente extraído das porções internas à matriz vegetal. A massa do soluto contido inicialmente na fase sólida (O), consiste na massa de soluto facilmente acessível (P), e da massa de soluto inacessível dentro da fase sólida partículas, (K):

$$O = P + K \quad (6)$$

A massa da fase sólida isenta de soluto (N), permanece constante durante a extração. As quantidades de soluto estão relacionadas com essa quantidade, de modo que as concentrações iniciais está:

$$X(t = 0) = X_0 = \frac{O}{N} = X_P + X_k = \frac{P}{N} + \frac{K}{N} \quad (7)$$

Além disso, Sovová (1994) despreza nas equações diferenciais de balanço de massa, os termos referentes à dispersão axial e ao acúmulo na fase fluída, e à difusão na fase sólida, por considerar que estes fenômenos não influenciam significativamente no processo quando comparados à convecção na fase fluída. As equações a seguir apresentam o balanço de massa nas fases fluída e sólida segundo o modelo de Sovová (1994):

$$\text{Fase fluída: } u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{J(X,Y)}{\varepsilon \rho} \quad (8)$$

$$\text{Fase sólida: } \frac{\partial X}{\partial t} = \frac{J(X,Y)}{(1-\varepsilon)\rho_s} \quad (9)$$

Onde:

$$J(X,Y) = k_{Ya} (Y^* - Y) \quad \text{para } X > X_k \quad (10)$$

$$J(X,Y) = k_{Xa} \left(1 - \frac{Y}{Y^*}\right) \quad \text{para } X \leq X_k \quad (11)$$

Onde k_{YA} e k_{XA} são os coeficientes de transferência de massa nas fases fluida e sólida, respectivamente e Y^* é a solubilidade do soluto no solvente. As condições de contorno para as equações de balanço de massa são:

$$X(h, t = 0) = X_0 \quad (12)$$

$$Y(h = 0, t) = 0 \quad (13)$$

Para a solução analítica das equações, Sovová (1994) propôs a definição de algumas variáveis adimensionais:

$$r = \frac{X}{X_k} \quad (14)$$

$$y = 1 - \frac{Y}{Y^*} \quad (15)$$

$$z = \frac{k_{YA}}{\vec{u}} h \quad (16)$$

$$\tau = \frac{\varepsilon k_{YA} \rho Y^* t}{(1-\varepsilon) \rho_S X_k} \quad (17)$$

Onde:

X_k : concentração de soluto na fase sólida a partir da qual a transferência de massa é retardada pela difusão na fase sólida.

Y^* : solubilidade do soluto no solvente.

k_{YA} : coeficiente de transferência de massa na fase fluida.

Introduzindo as variáveis adimensionais obtém-se:

$$\frac{\partial r}{\partial \tau} = \frac{\partial y}{\partial z} = -J^*(r, y) \quad (18)$$

Onde:

$$J^*(r, y) = \frac{J(X, Y)}{k_{YA} J^*} \quad (19)$$

As condições de contorno passam a ser:

$$r(z, \tau = 0) = r_0 \quad (20)$$

$$y(z = 0, \tau) = 1 \quad (21)$$

Definindo uma função $f(r)$ tal que:

$$J^*(r, y) = f(r)y \quad (22)$$

Onde: $f(r > 1) = 1$ e $f(r \leq 1) \leq 1$

Para determinar o perfil de concentração na fase sólida, Sovová (1994) integrou considerando J^* independente da concentração de soluto na fase fluida (omissão do termo y , tornando $J^*(r, y) = J^*(r)$), obtendo:

$$\frac{1}{f(r)} \frac{\partial r}{\partial z} = +r = r_0 \quad (23)$$

Com a condição de contorno:

$$\frac{\partial r(z=0, \tau)}{\partial \tau} = -f(r)$$

No período da extração no qual o soluto está facilmente acessível ao solvente (fase CER), ou seja, $X = X_k$, temos que $r = 1$, logo:

$$\frac{\partial r}{\partial z} + r = r_0 \quad (24)$$

Com a condição de contorno:

$$\frac{\partial r(z=0, \tau)}{\partial \tau} = -1$$

Para $X \leq X_k$, ou seja, $r \leq 1$, pode-se definir uma constante k tal que:

$$f(r \leq 1) = kr \quad (25)$$

A função da constante k é introduzir no modelo o coeficiente de transferência de massa na fase sólida:

$$k = \frac{k_{xA}\rho_s X_k}{k_{yA}\rho Y^*} \quad (26)$$

Sovová (1994) obtém, assim, o perfil de concentração de soluto na fase sólida:

$$r = r_0 - \tau \exp(-z), \text{ para } \tau < \tau_m \quad (27)$$

$$r = r_0 - \tau_m \exp[-k(z - z_w)], \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_n, z > z_w \quad (28)$$

$$r = \frac{r_0}{1 + \{r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)] - 1\} \exp(-r_0 k z)}, \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_n, z \leq z_w \text{ e para } \tau \geq \tau_n \quad (29)$$

Onde:

$$\tau_m = r_0 - 1 \quad (30)$$

$$\tau_n = \tau_m + \frac{1}{k} \ln \left[\frac{1 + \tau_m \exp(r_0 k Z)}{1 + \tau_m} \right] \quad (31)$$

$$Z = \frac{k_{yA} h}{\vec{u}} \quad (32)$$

$$z_w = \frac{1}{kr_0} \ln \left\{ \frac{r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)] - 1}{r_0 - 1} \right\} \quad (33)$$

Integrando-se em relação a y , obtém-se o perfil de concentração de soluto na fase solvente:

$$y = \exp(-z), \text{ para } \tau < \tau_m \quad (34)$$

$$y = \frac{\tau_m \exp(z_w - z)}{r_0 - \exp[k(\tau_m - \tau)]}, \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_{n,z} > z_w \quad (35)$$

$$y = \frac{r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)]}{\exp(r_0 k z) + r_0 \exp[k(\tau - \tau_m)] - 1}, \text{ para } \tau_m \leq \tau < \tau_{n,z} \leq z_w \text{ e para } \tau < \tau_n \quad (36)$$

Para a análise de dados experimentais, as equações do modelo devem ser funções de grandezas facilmente mensuráveis, como tempo ou massa de extrato. As equações que definem a curva de extração pelo modelo de Sovová (1994) são as que se seguem:

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [1 - \exp(-z)] t, \text{ para } t \leq t_{CER} \quad (37)$$

$$m(h = H, t) = Q_{CO_2} Y^* [t - t_{CER} \cdot \exp(z_w - z)], \text{ para } t_{CER} < t \leq t_{FER} \quad (38)$$

$$m(h = H, t) = N \left\{ X_0 - \frac{Y^*}{W} \ln \left[1 + \exp \left(\frac{W X_0}{Y^*} \right) - 1 \right] \exp \left[\frac{W Q_{CO_2}}{N} (t_{CER} - t) \right] \left(\frac{X_P}{X} \right) \right\}, \text{ para } t > t_{FER} \quad (39)$$

Onde:

$$Z = \frac{N k_{YA} \rho}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon) \rho_s} \quad (40)$$

$$W = \frac{N k_{XA}}{Q_{CO_2} (1 - \varepsilon)} \quad (41)$$

$$Z_w = \frac{ZY^*}{WX_0} \ln \left\{ \frac{X_0 \exp \left[\frac{WQ_{CO_2}}{N} (t - t_{CER}) \right] - X_k}{(X_0 - X_k)} \right\} \quad (42)$$

$$t_{CER} = \frac{NX_P}{Y^*ZQ_{CO_2}} \quad (43)$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{N}{Q_{CO_2}W} \ln \left[\frac{X_k + X_P \exp \left(\frac{WX_0}{Y^*} \right)}{X_0} \right] \quad (44)$$

2.2.2 Modelo de Martínez

O modelo de apresentado no item 2.2.1 deste capítulo, descrever curvas de extração de solutos com um único pseudocomposto, considerando o leito de extração, soluto e solvente um sistema pseudoternário. No entanto, os extratos obtidos com tecnologias a alta pressão são misturas de vários compostos, tais como terpenos, flavonoides, fenóis, entre outros. França e Meireles (2000) propuseram um modelo onde o fluxo de transferência de massa interfacial é função da quantidade de alguns grupos de compostos do extrato no solvente. A modelagem de processos como este, leva em consideração a variação da composição do extrato ao longo da extração, de forma que se possa otimizar o processo para a obtenção dos compostos de interesse, conforme Equação 45.

$$J(X, Y) = S = \sum_{i=1}^n S_i \quad (45)$$

Onde:

$J(X, Y)$ é o fluxo de transferência de massa na interface sólido-fluido;

S_i é a função relativa a solubilidade do componente i .

França e Meireles (2000), dividiram o processo de extração em duas principais etapas. Na primeira, consideraram os valores de S_i constantes e na segunda etapa, de taxa decrescente, atribuíram a variação de S_i na cinética de reações químicas de ordem para cada componente, onde observaram resultados razoáveis na modelagem de extração de óleos, ácidos graxos e carotenóides da fibra residual da prensagem da amêndoa de dendê. Baseado neste modelo, Martínez e colaboradores (2003) propuseram implantar uma nova função para substituir o termo

Si na Equação 45, de modo a modelar a extração de cada grupo de compostos do extrato, conforme mostra a Equação 46.

$$S_i(t) = \frac{A_i b_i \exp[b_i(t_{mi}-t)]}{\{1+\exp[b_i(t_{mi}-t)]\}^2} \quad (46)$$

Onde:

t é o tempo de extração;

A_i , b_i , t_{mi} são os parâmetros ajustáveis do modelo;

O balanço de massa para a fase fluida pode ser expresso pela Equação 47, onde o termo $J(X,Y)$ é dado pela Equação 45.

$$u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{J(X,Y)}{\varepsilon} \quad (47)$$

Utilizando a condição inicial $Y(h=0) = 0$, e integrando, obtém-se na saída do extrator:

$$Y(h=H) = \frac{H_B}{u\varepsilon} \sum_{i=1}^n S_i \quad (48)$$

Sabendo-se que S_i é dado pela Equação 46 e integrando a Equação 48 com a condição de contorno inicial:

$$m(h=H_B, t=0) = 0 \quad (49)$$

Então tem-se a equação da curva de extração para cada grupo de compostos:

$$m(h=H_B, t) = \frac{X_{0i} m_t}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1+\exp(b_i t_{mi})}{1+\exp[b_i(t_{mi}-t)]} - 1 \right\} \quad (50)$$

Onde:

b_i e t_{mi} são parâmetros ajustáveis;

A_i pode ser calculado em função do valor de X_0 ;

X_0 é a fração de soluto total disponível (dado experimental)

O modelo foi aplicado com sucesso por Martínez et al (2003) a dados de extração de oleoresina de gengibre, tratando novamente o extrato como uma mistura de quatro grupos de compostos.

2.2.3 Modelo de Esquivel

O modelo de Esquivel et al. (1999), representado pela Equação (51) possui dois parâmetros: e_{lim} representa a extração máxima em um tempo infinito de extração e b é um parâmetro ajustável que não possui significado físico. Neste caso, a eficiência ($e\%$) é calculada como uma razão entre a massa extraída e a massa inicial em uma base livre de soluto.

$$e = e_{lim} \left(\frac{t}{b+t} \right) \quad (51)$$

Este é um modelo empírico que baseia-se na cinética de crescimento celular proposta por Monod (1949), podendo ser aplicado para demonstrar o rendimento de extração em função do tempo. Conforme apresentado abaixo, o ajuste para determinação da obtenção de soluto a partir de matriz sólida:

$$m_{ext} = x_0 F \left(\frac{t}{b+t} \right) \quad (52)$$

Onde:

m_{ext} é massa do extrato (g); F é a massa do material sólido (g); t é o (s) tempo (s) de extração; x_0 é a razão inicial de massa de soluto na fase sólida (g / g); e b é um parâmetro ajustável (s).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO

Neste estudo os ensaios foram conduzidos pelo método dinâmico de extração, o qual caracteriza-se pela passagem contínua do solvente supercrítico através matriz sólida, tanto nos experimentos cinéticos como na determinação do rendimento global de extração. Conforme descrito no Capítulo III, os melhores resultados obtidos para extratos de *S. rhombifolia*, foram por meio do emprego da técnica PLE. Dessa forma, o que segue é o estudo da ampliação de escala de extração para esta mesma técnica. Para tanto, os parâmetros de processo seguem sendo os mesmos, salvo os conteúdos de materiais, os quais tiveram seus valores corrigidos mantendo a proporcionalidade da relação diâmetro vs altura do leito de extração e a porosidade. Para a execução deste experimento foi criada a adaptação de outro aparato experimental, conforme descrito a seguir.

3.1.1 Aparato de PLE Ampliada

Os ensaios de extração em escala ampliada por PLE de *S. rhombifolia* foram realizados mediante adaptação ao aparato já existente no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), conforme demonstrado pela Figura 31.

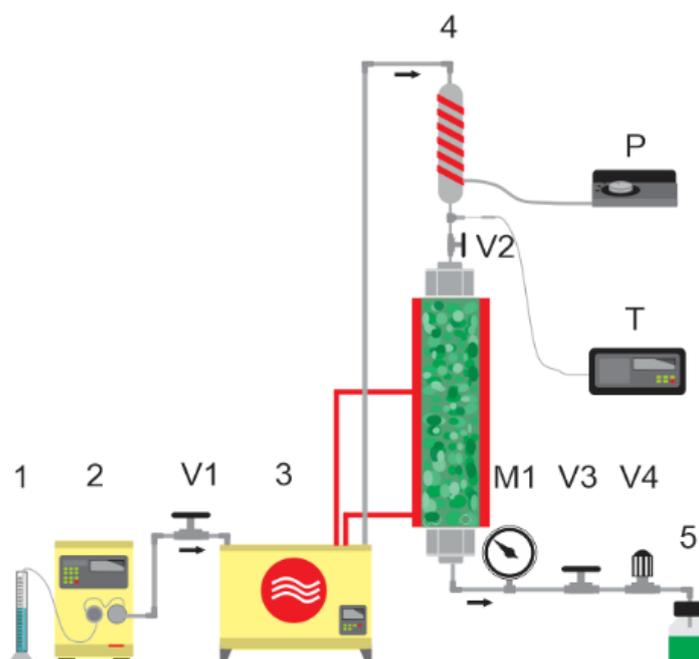
Figura 31 – Aparato experimental da PLE em escala ampliada



Fonte: O autor

O aparato experimental utilizado compreende a unidade de extração multifuncional, construída pelo LATESC. Maiores detalhes acerca dos princípios de elaboração e da construção do equipamento podem ser visualizados no trabalho apresentado por Mazzutti e colaboradores (2018). A Figura 32 apresenta o diagrama da unidade, contemplando os equipamentos que a compõem, bem como o fluxo de extração.

Figura 32 - Diagrama ilustrativo da unidade PLE ampliada



Fonte: O autor

3.1.2 Determinação da Cinética de Extração

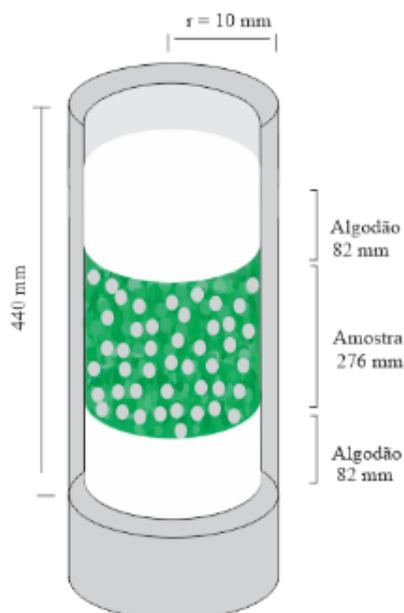
Para os estudos de cinética de extração em pequena escala da *S. rhombifolia* a coluna foi preenchida com 3 g de matéria-prima e 30 g de esferas de vidro. Os ensaios foram realizados a uma pressão constante de 10 MPa, temperatura de 80 °C e vazão de solvente de 2 mL.min⁻¹. Os frascos de coleta foram previamente pesados e a coleta do extrato obtido realizada em intervalos de tempo pré-determinados. Já para a ampliação de escala foram utilizados 12 g de matéria-prima e 118 g de esferas de vidro, sob mesmas condições de processo da escala reduzida.

Para a construção da curva global de extração que está representada na Figura 34, foi necessária a etapa de eliminação do solvente, para então quantificar a massa de extrato. O tempo de extração foi calculado a partir da curva de extração.

3.1.3 Procedimento experimental para ampliação de escala

Para a ampliação de escala de extração de *S. rhombifolia* foi utilizada uma coluna de extração de aço inoxidável de 138,2 mL, conforme ilustração da Figura 33, assim como efetuado no processo cinético de extração. Antes de cada extração, a coluna foi pré-aquecida à temperatura de operação.

Figura 33 - Representação da montagem do leito de extração



Fonte: O autor

O procedimento segue conforme ilustrado pela Figura 33, inicialmente as válvulas V2, V3 e V4 são mantidas fechadas, enquanto a bomba envia o solvente ao tanque pulmão (TP) conectado próximo à entrada da coluna de extração, em fluxo descendente. O tanque pulmão é envolvido por uma resistência elétrica, acionada e controlada por potenciômetro (P) e termopar (T), que garantem as condições ideais de temperatura do solvente para o preenchimento da coluna e extração em regime dinâmico. Quando preenchido e na temperatura correta, faz-se a abertura da válvula V2, para pressurização do leito de extração. A coluna de extração é mantida à temperatura desejada de operação por um banho termostático que faz circular água em uma camisa do extrator. Esse procedimento segue até atingir-se a pressão desejada, faz-se então a abertura das válvulas V3 e V4, iniciando assim, a contagem do tempo de extração, caracterizando-se regime dinâmico de extração.

As extrações foram realizadas com os mesmos parâmetros empregados nas extrações em escala reduzida, sendo a pressão constante de 10 MPa e à temperatura de 80 °C. Utilizou-se a mesma razão entre amostra e solvente (1:30 m/v) utilizada nas análises à baixa pressão, a título de comparação. O tempo total de extração foi de 1 h.

Por fim, a determinação da massa de extrato obtida nos ensaios é dependente da etapa de eliminação do solvente, a qual foi realizada sob pressão reduzida em evaporador rotativo (Fisatom 802, Fisatom, São Paulo, Brasil), conforme descrito no Capítulo III. Após a massa aferida, os foram armazenados em congelador doméstico a -18 °C até a realização dos ensaios de avaliação da atividade biológica.

3.1.4 Caraterização do Leito de Partículas

Com a massa específica aparente (ρ_a), determinada e apresentada no Capítulo III, por meio da relação entre a massa de amostra utilizada nas extrações e o volume do leito ocupado. Foi possível o cálculo da porosidade total do leito de partículas (ϵ), usando os dados da massa específica aparente (ρ_a), área do leito (AHm) e as massas específicas da amostra (m_a) e das esferas (m_b) por meio da Equação 53.

$$\epsilon = 1 - \frac{1}{AHm} \left(\frac{m_a}{\rho_a} + \frac{m_b}{\rho_b} \right) \quad (53)$$

3.2 VALIDAÇÃO POR MEIO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

As determinações do teor de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e da atividade antioxidante dos extratos de *S. rhombifolia* foram realizadas no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC). A atividade antioxidante *in vitro* dos extratos foi avaliada por técnicas distintas, sendo elas: método do radical DPPH e método do radical ABTS. Os parâmetros utilizados estas determinações seguem o descrito no Capítulo III, nos itens 3.4.1, 3.4.2, 3.4.3 e 3.4.4, no entanto neste módulo foram realizadas para amostras de extratos da escala reduzida e ampliada, para que se possa validar o método pela aferição dos resultados.

3.3 MODELAGEM

Os dados experimentais obtidos pelas extrações em PLE, foram aplicados aos modelos matemáticos de Sovová (1994), Martínez (2003) e Esquível (1999). Para tanto, o ajuste foi realizado com o auxílio do software MatLab® versão R2016a (Mathworks Inc., Natick, MA, USA), conforme (HALL et al., 2018). Para a aplicação as curvas experimentais, é necessário uma série de parâmetros de processo que devem ser obtidos experimentalmente ou estimados, além disso os erros para cada ajuste calculados pelo desvio entre os dados experimentais e os preditos pelos modelos.

Os parâmetros necessários para a modelagem do modelo de Sovová (1994) são: porosidade do leito (ϵ), rendimento global (X_0), densidade do sólido (ρ_r), densidade do solvente (ρ_{sol}), vazão de solvente (Q), altura (HB) e diâmetro (dB) do leito de extração, massa de matéria-prima (F), taxa de extração no período de taxa de extração constante (MCER) e solubilidade do extrato no solvente (Y^*), nas condições de processo. Os parâmetros de cada modelo foram ajustados mediante o valor do erro quadrático médio. Os parâmetros ajustados para cada modelo foram os seguintes:

- Modelo de Sovová (1994): tCER e kYA, onde tCER é o tempo de duração da etapa de taxa de extração constante e kYA é o coeficiente de transferência de massa na fase fluida.

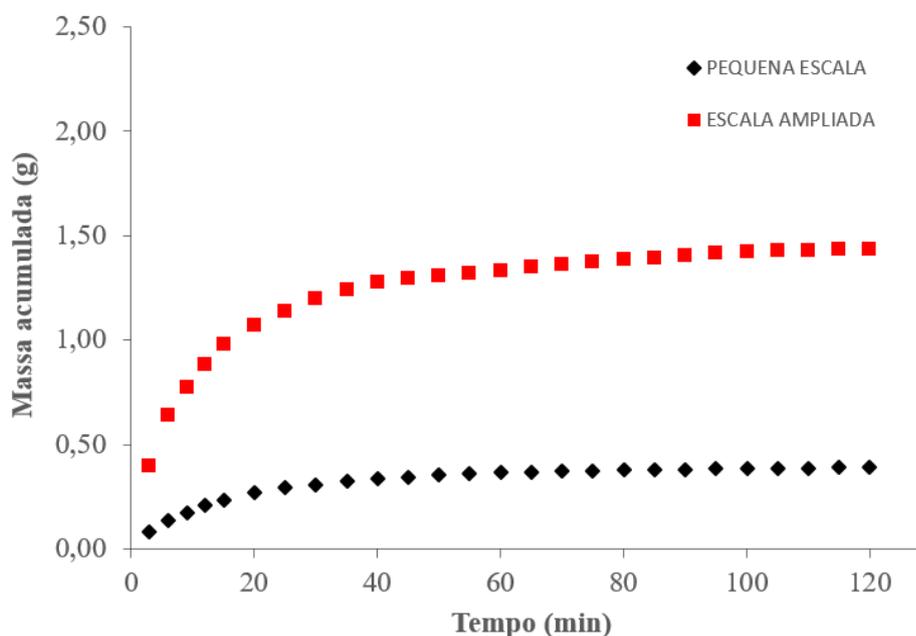
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO

4.1.1 Determinação da Cinética de Extração

A obtenção dos parâmetros de operação para as extrações, são pré-requisitos para o estudo de ampliação de escala. A ampliação da extração com líquido pressurizado (PLE) corresponde ao propósito de possibilitar a geração de maior volume de produtos (Figura 34), tendo por base uma técnica bem-sucedida na geração de produtos funcionais oriundos de diferentes matérias-primas, pois permite a extração de diversos biocompostos (MUSTAFA; TURNER, 2011).

Figura 34 – Curvas de extração cinética com PLE em escala pequena e em escala ampliada a 10 MPa, 80 °C e solvente EtOH/H₂O (70:30)



Fonte: O autor

Os dados obtidos nas cinéticas permitem a compreensão das diferenças existentes no escalonamento dos processos, bem como os comportamentos nas diferentes etapas de extração. Na primeira etapa de extração, onde são recuperados os compostos de maior facilidade de remoção da matéria-prima (etapa CER), observa-se uma inclinação significativamente maior para a cinética da extração ampliada, se comparada com a curva em pequena escala. Esse

comportamento já era esperado, tendo em vista o aumento de massa inicial inserida no leito de extração e por se tratar do estágio inicial de extração, correspondendo principalmente à lavagem dos componentes extraídos localizados na superfície externa das partículas quebradas (XI; YAN; HE, 2014).

O emprego de solventes líquidos em temperaturas e pressões elevadas, melhoram a solvatação dos compostos alvo e aumenta as taxas de difusão, reduzindo o tempo de extração e consumo de solventes (MACHADO et al., 2015; MUSTAFA; TURNER, 2011). Esse fato é caracterizado pela fase difusional de extração, onde não há aumento de extração em função do tempo de processo. Essa etapa é bem definida em ambas curvas da Figura 34, o que permitiu a determinação do tempo em 1h de extração, considerando que o período delimitado compreenda adequadamente todas três etapas de extração.

A técnica de extração PLE, por utilizar solventes em seu estado subcrítico com temperaturas e pressões controladas, é descrita como uma das técnicas mais eficientes na extração de compostos fenólicos de plantas, tendo como principal vantagem o curto tempo de processo (OTERO-PAREJA et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2014). Ao decorrer o processo de extração, é possível identificar a diminuição na taxa de extração, elucidado pela redução da concentração de soluto, comportamento que se repete no escalonamento de extração, corroborando com a validação do processo e possível de ser visualizado na Figura 35.

Figura 35 - Concentração de soluto nas cinéticas: pequena escala (A) e escala ampliada (B) em PLE antes da recuperação do solvente



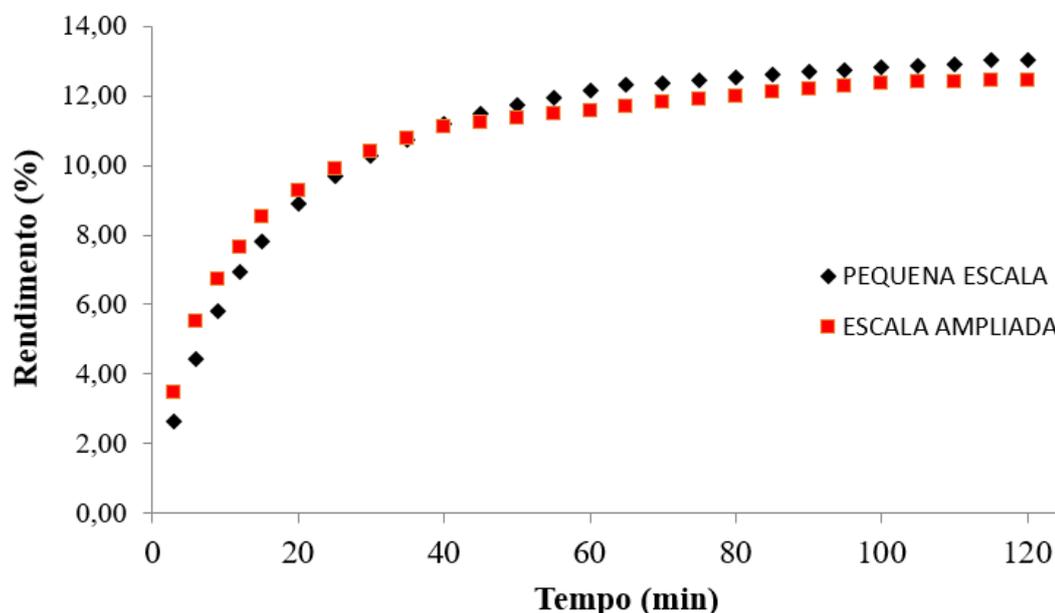
Fonte: O autor

4.1.2 Determinação do Rendimento de Extração

Como descrito anteriormente no Capítulo III, a análise para caracterização química dos extratos de *S. rhombifolia*, identificou e permitiu a quantificação de isoquercetina, ácido ferúlico, kaempferol e coniferaldeído como compostos majoritários. Portanto, as curvas cinéticas permitem expressar que do resultado deste processo de extração obtém-se uma mistura destes compostos.

A determinação do rendimento de extração baseado nos parâmetros (Tempo, temperatura e solvente) preliminarmente obtidos através das cinéticas, pode ser entendida como resultado em rendimento de extrato com potencial ação antioxidante, tendo em vista a presença de compostos majoritários com esta propriedade funcional. Nesse quesito, é importante que a reprodutibilidade no escalonamento de extração retorne valores de igual ou superior grandeza com relação ao processo em menor escala. Conforme demonstra a Figura 36, são expostas as curvas cinéticas sobrepostas, em função do rendimento de extração.

Figura 36 – Comparativo entre cinéticas com base no rendimento para extratos de *S. rhombifolia* via PLE



Fonte: O autor

Os dados de rendimento cinético, demonstram que mesmo com a diferença na fase inicial de extração, os valores finais de rendimento se igualam em ambos processos extrativos. Esse fato pode ser explicado pelos parâmetros de processo empregados, sabendo que no PLE,

preferencialmente realizado com água e etanol (GRAS) como solventes de extração, tem sido utilizado com sucesso na obtenção de polifenóis (COLIVET; OLIVEIRA; CARVALHO, 2016; FERNÁNDEZ-PONCE et al., 2016; GARCIA-MENDOZA et al., 2017), no entanto a quantidade de massa inicial de matéria-prima pode ter exercido a influência necessária para o comportamento apresentado. Portanto, além da manutenção dos parâmetros e resultados obtidos, tem-se a validação da reprodutibilidade do processo em maior escala, a qual é, em primeira instância, dependente da reprodução das curvas cinéticas em unidades de geometria diferente. MOURA et al, (2005) e CARVALHO JR et al, (2005), relatam estas relações estabelecidas entre unidades de extração com geometria de leito (Hb/dB) diferentes (massa de alimentação, geometria do leito e vazão de solvente) para sistemas de extração de funcho e alecrim, respectivamente.

Os rendimentos globais para extratos de *S. rhombifolia*, no estudo de escalonamento, quando comparados com aqueles de escala laboratorial, retratam comportamento similar. A Tabela 14, apresenta os resultados para rendimento global de extração no tempo estabelecido de processo para ambas escalas.

Tabela 14 – Rendimento global de extração no escalonamento de PLE

Método	Massa de alimentação (g)	Vazão de solvente (mL/min)	Xo (%)
Menor escala	3,0015	2	12,34 ^a ± 0,31
	3,0020	4	12,67 ^a ± 0,20
Escala Ampliada	11,5241	2	9,91 ^b ± 0,24
	11,5236	4	11,06 ^a ± 1,01

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Os resultados obtidos na avaliação de rendimento, analisando, tanto os valores obtidos por meio dos pontos que formam as curvas cinéticas, bem como a avaliação de rendimento global de extração, correspondem ao comportamento descrito pela teoria da similaridade. Descreve-se por esta teoria, o fator geométrico H/d, satisfazendo na ampliação de escala a proporcionalidade geométrica entre os diferentes processos de extração a alta pressão, levando em consideração os critérios dinâmicos $D_p \cdot v_{ms} / M$, Q_m / M e $Q_m \cdot d / M$ (FERNÁNDEZ-PONCE et al., 2016).

Os dados da Tabela 14 evidenciam que o aumento de vazão do solvente não afetou significativamente o rendimento global para a pequena escala ($p > 0,05$). No entanto, quando

operado o sistema ampliado de extração, uma significativa diferença ($p > 0,05$) foi observada para o tempo estabelecido de extração em 1 h. Conforme relatam Kotnik (2007) e Del Valle (2004) esse comportamento pode ser explicado justamente em função do escalonamento do processo, uma vez que os procedimentos foram conduzidos em equipamentos diferentes. Dessa forma, evidenciam a importância do estudo cinético em ambos sistemas de extração, de modo a confirmar características que remontam à similaridade da técnica e permitem mensurar os resultados, por considerar que aferições em escala industrial geram um alto custo (FERNÁNDEZ-PONCE et al., 2016).

4.2 MODELAGEM MATEMÁTICA

4.2.1 Dados experimentais e parâmetros ajustáveis

Os dados cinéticos de extração PLE foram aplicados aos modelos matemáticos de Sovová (1994), Martínez et al (2003) e Esquivel (1999). São adotadas pelos modelos, hipóteses simplificadoras ao processo de extração, dentre elas: operações isotérmicas, diminuição de pressão insignificante e porosidade constante através do leito de extração. Além disso, assume-se que a carga de soluto no solvente é baixa e, portanto, a densidade, a dispersão axial e a velocidade do fluido extrator permanecem aproximadamente constantes. Essas suposições reduzem o número de equações necessárias para descrever o processo de extração para balanços de massa, relações de equilíbrio e leis cinéticas (OLIVEIRA; SILVESTRE; SILVA, 2011).

Os dados experimentais serviram para os ajustes das condições operacionais dos parâmetros. Conforme estudo de Oliveira et al (2011), do ponto de vista da engenharia, o aumento de escala das unidades de extração, requerem o conhecimento dos parâmetros relevantes do processo, como a cinética de equilíbrio e de transferência de massa, e também as condições ótimas de operação. Estes parâmetros e dados laboratoriais experimentais são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Dados experimentais para escalonamento de extração

Parâmetro	Escala de extração	
	Menor	Ampliada
T (°C)	80	80
P (MPa)	10	10
V (mL/min)	2	2
X (EtOH)	70	70
X (H ₂ O)	30	30
$\rho_{\text{EtOH+H}_2\text{O}}$ (kg.m ⁻³)	851,4	851,4
ρ_{amostra} (kg.m ⁻³)	1442,50	1442,50
$\rho_{\text{Esf. vidro}}$ (kg.m ⁻³)	2540	2540
Y* (g ext/g (solv))	0,00836	0,0155
u (kg solv/s)	2,7180E-05	5,4360E-05
m _{am} (g)	3,0015	11,5265
m _{esf vidro} (g)	30,8477	118,5698
H (m)	2,00E-01	2,77E-01
R (m)	6,00E-03	1,00E-02
ϵ	0,3711	0,3711
S (m ²)	1,13E-04	3,14E-04
ρ_a (kg.m ⁻³)	1496	1496
U (m.s ⁻¹)	1,67E-04	1,20E-04
N (g)	33,4583	128,6600
x ₀	0,0117	0,0112

Com base nas informações acima descritas, os ensaios de modelagem matemática foram executados e a análise do erro quadrático médio (EQM) foi empregada para auxiliar na aferição do ajuste de cada modelo, conforme resultados apresentados na Tabela 16. Assumindo as considerações experimentais e analisando EQM e representações gráficas, é possível observar que os dados experimentais tiveram bons ajustes a todos modelos testados, destacando o melhor ajuste ao modelo de Sovová (1994).

Tabela 16 - Parâmetros ajustáveis e erros quadráticos dos modelos matemáticos

Modelo	Parâmetro ajustado	Escala de extração	
		Menor	Ampliada
Sovová (1994)	t _{CER} (min)	5,840	1,850
	k _{YA} (s ⁻¹)	1,811	1,072
	EQM	0,999	0,979
Martínez (2003)	b _i (min)	0,076	3,995
	t _{mi} (s ⁻¹)	0,117	-0,631
	EQM	0,956	0,916
Esquivel (1999)	b	6,911	5,425
	EQM	0,951	0,972

Os valores de EQM para extrações em pequena escala, apontam o melhor ajuste ao modelo de Sovová (1994), seguido em ordem decrescente pelo modelo de Martínez et al (2003) e Esquivel (1999). Estes resultados podem estar relacionados ao fato de que o modelo de Sovová (1994) considera matrizes vegetais compostas por dois tipos de partículas: no pré-tratamento da amostra porções mais fragmentadas que outras no processo de moagem, por exemplo. Dessa forma, o soluto pode ser de fácil acesso o que caracteriza bem a etapa CER de extração, ou há maior dificuldade de acesso ao soluto, já caracterizando extrações na etapa FER para difusional. Já para os dados de ampliação de escala, o modelo de Esquivel (1999) apresentou melhor desempenho do que o modelo de Martínez (2003), no entanto, ambos representaram os fenômenos de transferência de massa ocorridos nos experimentos.

O modelo logístico de Martínez et al (2003) apresentou o menor valor de EQM na aplicação de dados da ampliação de escala, mas ainda assim tem bom ajuste cinético. As diferenças de ajuste apresentadas em especial as fases CER e FER, podem estar relacionadas às distintas quantidades de massa inicial de amostra, sendo que no mesmo tempo de extração é notória a diferença de extrato obtido no sistema de escalonamento de processo. Os resultados que variam entre 0,9965 e 0,9158 para EQM, apresentam pouco desvio e assim, confirmam compatibilidade da previsão de modelagem dos dados experimentais, estando de acordo com o descrito por Fernández-Ponce e colaboradores (2016), quando obtiveram resultados até mesmo com variação superior à deste estudo.

A análise dos dados da Tabela 16 evidencia um comportamento diferenciado do parâmetro de tempo para o modelo de Martínez et al (2003), quando comparado aos demais modelos, bem como ao ensaio em menor escala. No ajuste do modelo, o parâmetro ajustável da constante de tempo (t_m) apresenta valor negativo. Esse fato é indicativo de que a extração tem seu pico na etapa inicial, diminuindo gradativamente durante o processo (ACOSTA; BOLZAN; LIVIA, 2014). Conforme Huang e colaboradores (2011), esse comportamento é muito comum em extrações supercríticas.

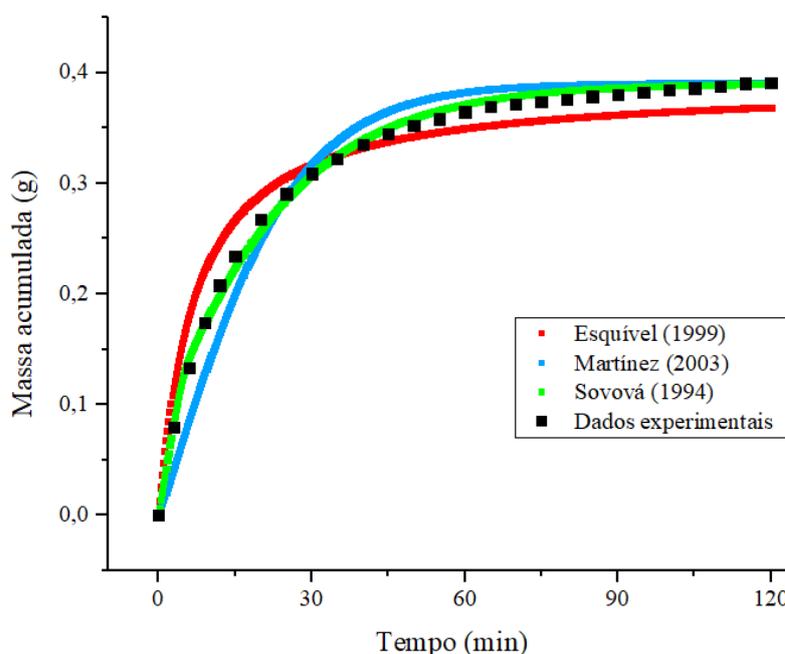
Na maioria dos casos, extrações supercríticas apresentam t_m baixo para etapas iniciais, onde a resistência de transferência de massa em torno das partículas sólidas diminui, devido ao aumento da convecção a taxas de fluxo mais elevadas (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009). No caso de PLE, a constante t_m que representa o período no qual a extração é caracterizada pelo transporte de soluto facilmente acessível por convecção (FERNÁNDEZ-PONCE et al., 2016), a taxa de consumo de rendimento não é dependente do fluxo de solvente, mas sim da solubilidade do mesmo.

Resulta desse processo um aumento no rendimento de extração, beneficiado pela redução da resistência à transferência de massa, associado ao poder de solubilidade do solvente empregado no PLE. Além disso, é possível observar que modelos amplamente utilizados para descrever processos de extração supercrítica, demonstram serem eficientes para descrever os processos de transferência de massa em PLE, uma vez que são similares os comportamentos observados em ambos processos.

4.2.2 Curvas cinéticas e ajustes aos modelos matemáticos

A Figura 37 reúne resultados da modelagem matemática com base nos modelos de Sovová (1994), Martínez (2003) e Esquivel (1999) aplicada aos dados experimentais do escalonamento de extração em PLE. Para cada modelo testado, curvas globais de extração foram obtidas, possibilitando a análise do ajuste dos dados experimentais em função da predição do modelo e a comparação com os dados experimentais em função da massa acumulada em gramas por tempo de extração.

Figura 37 – Curvas cinéticas obtidas pela modelagem matemática para micro escala



Fonte: O autor

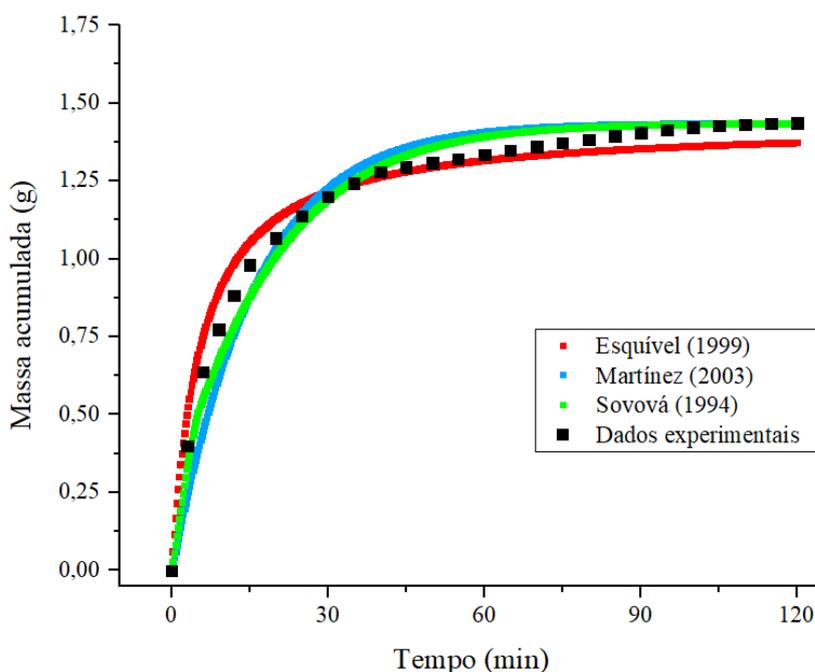
Analisando as curvas cinéticas para a modelagem matemática evidencia-se o melhor ajuste dos dados experimentais ao modelo de Sovová (1994), seguido de Martínez (2003) e Esquivel (1999) em sequência decrescente. Esse resultado pode estar relacionado ao fato de que

o modelo de Sovová (1994) considera individualmente os coeficientes de transferência de massa para a fase de solvente e para a fase sólida. Nesse estudo o coeficiente de transferência de massa para a fase de fluida (K_f) e coeficiente de transferência de massa do soluto na fase sólida (K_s), tiveram resultados de 0,0273 e 0,0036, respectivamente. Estes resultados corroboram com o descrito por Sartori e colaboradores (2017), os quais relatam que os valores de K_s foram menores que os de K_f . Esse comportamento é devido ao soluto intrínseco às partículas tem maior dificuldade de ser dissolvido e, portanto, mais tempo é necessário para atravessar a interface entre sólido e fluido que o soluto localizado na superfície das partículas (WEINHOLD et al., 2008).

Os modelos estudados foram inicialmente desenvolvidos para aplicação em processos de extração com fluido supercrítico; porém, foram adaptados no presente trabalho para modelagem de líquidos pressurizados. Por se tratar de extrações a alta pressão, cujas características de fase de extração e envolvimento de parâmetros também existentes nas extrações supercríticas, os dados de extração em líquido pressurizado tem correspondido satisfatoriamente à predição oriunda dos modelos matemáticos.

Além disso, a modelagem matemática das curvas cinéticas do PLE pode auxiliar na compreensão dos mecanismos de transferência de massa do processo como um todo, permitindo sua otimização e o escalonamento de produção de extrato, conforme Figura 38.

Figura 38 – Curvas cinéticas obtidas por modelagem matemática para escala ampliada



Observa-se que as curvas cinéticas para as extrações ampliadas também apresentaram os três períodos de extração característicos dos processos a alta pressão: as etapas CER, FER e DC. As curvas obtidas utilizando os modelos de Sovová (1994) e Martínez (2003) apresentaram ângulos de inclinação mais próximos aos dados experimentais, quando comparado com o modelo de Esquivel (1999), onde os valores mais altos na etapa CER e mais baixos na etapa FER e DC fizeram com que a curva predita não se ajustasse como nos modelos anteriores. No entanto, é possível observar que todos ajustes aos modelos correspondem ao comportamento já esperado, onde ocorre a rápida extração do soluto na etapa CER, em intervalo de tempo inferior se comparado com os dados da menor escala, em termos de rendimento proporcional.

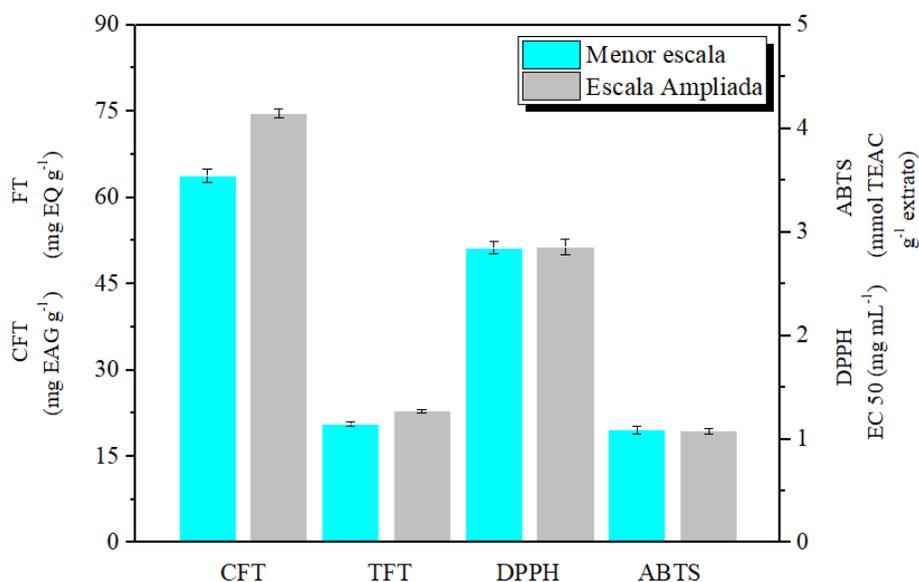
A modelagem matemática, contribui para a validação do escalonamento do processo de extração. Os resultados consistentes podem ser atribuídos a estratégia de ampliação de escala empregada neste estudo, seguindo a premissa de envolvimento de critérios adimensionais e critérios de similaridade. Esse critério simples baseia-se em manter constantes os fatores geométricos e dinâmicos, aumentando a escala (CASAS et al., 2009; PRADO et al., 2012).

De modo a respeitar a teoria da similaridade, parâmetros geométricos e dinâmicos constantes tiveram proporcionalidade respeitada para o aumento de escala. Assim, o fator geométrico H/d , onde H é a altura e d é o diâmetro do leito extrator para a escala ampliada, foi determinado em função das dimensões do leito de extração de menor escala. Contribuiu para esse dimensionamento a análise de porosidade do leito de extração, a qual foi mantida constante entre a menor e maior escala, de modo a respeitar os fenômenos de transferência de massa durante o processo de extração.

4.3 COMPOSTOS COM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Uma vez que a extração é o primeiro passo na recuperação de polifenóis a partir de matrizes vegetais, o desenvolvimento de técnicas rápidas e eficientes para a determinação do potencial existente no extrato se faz necessário para mensurar as propriedades do mesmo. Conforme Figura 39 é possível verificar os resultados obtidos para as análises de composição total de fenólicos e flavonoides, bem como atividade antioxidantes por meio do método ABTS e DPPH.

Figura 39 – Compostos com atividade antioxidante por grama de extrato de *S. rhombifolia* no processo de escalonamento



Fonte: O autor

Os ensaios de caracterização de *S. rhombifolia* no que diz respeito à presença de compostos com potencial ação antioxidante, conforme apresentado no Capítulo III, auxilia na validação deste estudo de ampliação de escala. A Figura 39 evidencia que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) nos resultados de atividade antioxidante entre os processos de pequena escala e escala ampliada. Foram encontrados valores de atividade antioxidante pelo método DPPH de $1,09 \pm 0,1$ e $1,08 \pm 0,1$ EC 50 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), e pelo método ABTS valores de $2,84$ e $2,85 \pm 0,1$ ($\text{mmol TEAC} \cdot \text{g}^{-1}$), para as escalas pequena e ampliada, respectivamente. Este comportamento já era esperado em função dos parâmetros de similaridade atribuídos no dimensionamento da extração em maior escala. Para o modelo de Sovová (1994), os parâmetros ajustáveis permitem que os processos em alta pressão tenham reprodutibilidade e similaridade, pois é baseado em um conjunto de critérios, dentre eles a porosidade do leito, o qual foi mantido constante em ambos processos.

A manutenção dos parâmetros de similaridade é necessária e constituem a abordagem selecionada neste estudo para se obter dados consistentes e validar o escalonamento de extração via PLE. Esses parâmetros são necessários para compor o passo mais importante na modelagem. O modelo que irá descrever o processo de extração, selecionado de acordo com os efeitos das mudanças nas condições de extração na curva de extração. Segundo relata Sovová (2017) um modelo adequado deve aproximar um conjunto de curvas experimentais de extração, mantendo todos os parâmetros da relação de equilíbrio de fase constantes a pressão e

temperatura de extração constante. Além disso, os parâmetros de transferência de massa da fase sólida devem ser fixados a menos que o tamanho da partícula seja alterado.

A Figura 39 também elucidada que para os ensaios de composição total de fenólicos e flavonoides, uma diferença significativa ($p > 0,05$) foi observada no processo de escalonamento, sendo que os resultados para a ampliação de escala superaram os encontrados na micro escala de extração. Com valores de CFT $62,97 \pm 1,4$ e $74,57 \pm 0,8$ ($\text{mg EAG} \cdot \text{g}^{-1}$) e FT $20,59 \pm 0,4$ e $22,87 \pm 0,2$ ($\text{mg EQ} \cdot \text{g}^{-1}$), entre menor e maior escala, respectivamente. Este comportamento pode estar relacionado com a massa inicial de amostra, uma vez que a massa utilizada na escala ampliada foi cerca de quatro vezes maior que a utilizada na menor escala.

Conforme relatado no item 4.1.2, os ensaios em escala ampliada apresentaram maiores rendimentos na etapa CER, totalizando 8,51 %. Valor muito superior em comparação à etapa FER e DIF, de rendimento percentual de 2,59 e 1,36 %, respectivamente. Maiores rendimentos, por consequência mais soluto sendo recuperado, pode sugerir a possibilidade de um número maior de compostos estar presente no extrato, o que pode corresponder ao valor maior de CFT na escala ampliada, quando comparado com a pequena escala de extração.

Segundo Sovová (2017), o aumento de rendimento na etapa CER se deve a proposta de *broken and intact cell* (BIC), ou seja, onde presume-se que em consequência das células quebradas o soluto contido é passivo de ser facilmente extraído e a outra porção do soluto, permanece intacto nas células não afetadas pelo prévio cisalhamento mecânico, no momento do preparo da matéria-prima. Isso corrobora com a diferenciação de rendimento entre as três etapas de extração, onde com o passar do tempo observa-se uma queda do rendimento e pode-se atribuir esse comportamento à dificuldade de acesso do solvente ao soluto, por este estar contido numa célula intacta.

Esse comportamento é descrito com coeficientes de transferência de massa interna e externa, os quais são comparados e combinados em um modelo, sendo este modelo uma importante ferramenta de interesse em modelagens para extrações a altas pressões, conforme reportado por Sovová, Sajfirova e Stateva (2017). O rendimento para a etapa CER no escalonamento corresponde por 68,3 % do total de massa acumulada na extração cinética, corroborando com Meireles (2008), a qual reportada em seu estudo que cerca de 70 – 90 % do material solúvel possa ser extraído nessa etapa.

O PLE aumenta o desempenho de extração se comparado a métodos de operação a temperatura ambiente e pressão atmosférica (CAMEL, 2001; RICHTER et al., 1996). A transferência de massa é influenciada pelas condições de processo na extração, fato pelo qual atribui-se um maior rendimento como demonstram os resultados deste estudo. Exercem

influência direta na transferência de massa, a concentração de etanol e misturas de solventes, a utilização de temperaturas elevadas, permitindo extrações mais rápidas e a pressão por ocasionar rupturas na matriz permitindo acesso facilitado ao solvente (MUSTAFA; TURNER, 2011).

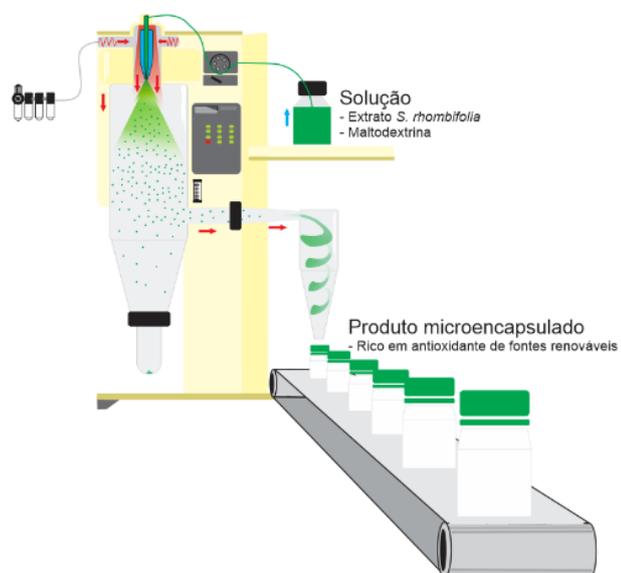
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos relacionados à ampliação de escala na extração com líquido pressurizado ainda são escassos. O diferencial deste estudo está aliado ao emprego de *S. rhombifolia*, uma matéria-prima, até onde sabe-se, nunca antes submetida ao processo de extração com alta pressão e caracterizada quimicamente quanto a fenólicos.

A técnica PLE com emprego de solventes GRAS demonstrou eficiência para a obtenção de compostos com atividade antioxidante. A recuperação de compostos fenólicos é atribuída a polaridade da mistura etanol e água (70:30 v/v), capaz de solubilizar e transportar os componentes bioativos presentes na matriz vegetal. A importância do desenvolvimento desta técnica está na possibilidade de utilizar um processo limpo para obtenção em larga escala de compostos de interesse e alto valor agregado.

A modelagem matemática permitiu obter parâmetros para o processamento do escalonamento de extração e prever o comportamento com bons ajustes aos modelos testados. O modelo de Sovová (1994) correspondeu ao melhor ajuste, o qual descreve a transferência de massa no processo extrativo soluto e solvente. Os modelos Martínez (2003) e Esquivel (1999), nesta ordem decrescente, também apresentaram bons resultados de ajuste a curva de extração global.

A análise quantitativa de compostos fenólicos e de atividade antioxidante no processo de escalonamento, contribuiu para a validação do processo de ampliação de escala. Neste quesito, o processo em maior escala de extração apresentou resultados estatisticamente iguais ($p > 0,05$) ou superiores, quando comparado à extração em pequena escala. Dessa forma, a utilização da proporcionalidade diâmetro e altura do leito, bem como igualdade de porosidade entre os sistemas de escalonamento, correspondem a uma ferramenta que permite a obtenção de maiores volumes em massa por meio da PLE, mas com características de composição iguais. Extrações em larga escala possibilitam prospectar aplicações industriais, pois reproduzem os resultados de escala laboratorial, denotando redução de custos e viabilização pela disponibilidade de compostos de interesse ao público consumidor, mediante incorporação em alimentos ou fármacos.



CAPÍTULO V

MICROENCAPSULAÇÃO DE EXTRATOS RICOS EM COMPOSTOS FENÓLICOS DE *S. rhombifolia* POR MEIO *SPRAY-DRY*

1 INTRODUÇÃO

O uso de técnicas de menor impacto ambiental, comumente denominadas como tecnologias verdes, é assunto de estudo em diversas áreas do conhecimento. No que diz respeito à obtenção de compostos funcionais a partir de matrizes vegetais, os processos de extração com altas pressões, tem demonstrado ser uma alternativa aos métodos convencionais de alto gasto energético e/ou com emprego de solventes orgânicos. Aliado a este processo, solventes ambientalmente amigáveis contribuem para ampliar o espectro de compostos recuperados e a possibilidade de aplicações dessas técnicas, as quais ainda estão em desenvolvimento em diversos setores industriais.

Conforme descrito no Capítulo III deste estudo, foi determinada a melhor rota de extração baseada no conceito de processamento verde e na otimização de processos. Extrações a altas pressões conferem maior seletividade aos compostos obtidos. A caracterização química possibilitou a identificação de importantes propriedades funcionais de *S. rhombifolia*, atribuídas principalmente aos compostos fenólicos presentes nessa matriz vegetal, os quais apresentam uma potencial atividade antioxidante.

A atomização em *spray-dry* é um processo amplamente utilizado em diferentes setores da indústria e constitui uma tecnologia de grande relevância no processamento de alimentos desidratados. A aplicação desta tecnologia na produção de microcápsulas, representa uma boa alternativa para a manutenção da qualidade de extratos vegetais encapsulados nas mesmas. Dentre os polímeros utilizados como agentes encapsulantes, a maltodextrina apresenta vantagens associadas ao baixo custo e facilidade operacional, além demonstrar efetividade na preservação de compostos fenólicos.

Neste estudo, o extrato de *S. rhombifolia*, obtido em escala ampliada de extração, conforme descrito no Capítulo IV, foi microencapsulado por *spray-drying* utilizando maltodextrina como agente encapsulante. Foram produzidas capsulas com duas diferentes concentrações de extrato que foram caracterizadas em termos de morfologia e propriedades físico-químicas e térmicas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Compostos fenólicos possuem propriedades de grande interesse para o setor alimentício e farmacêutico, destacando-se sua capacidade de atuar como antioxidante, agente antimicrobiano e anti-inflamatório. No entanto, são muito vulneráveis quando expostos a um ambiente oxidante, por exemplo, à luz, oxigênio, umidade, entre outros, devido à existência de ligações insaturadas nas estruturas moleculares. Estas características fazem com que sua ação dependa da eficácia da preservação, estabilidade e biodisponibilidade (FANG; BHANDARI, 2010). Neste sentido, a manutenção da estabilidade destes compostos pode ser alcançada mediante a utilização de sistemas de encapsulamento. Estes sistemas melhoram a estabilidade durante o armazenamento e tornando-se mais seguros para utilização como ingredientes alimentícios e proporcionando, desta forma benefícios aos consumidores. Além de estabilizar esses compostos bioativos, o processo de encapsulação também ajuda a mascarar sabores desagradáveis, incluindo o amargor e a adstringência, característicos de compostos funcionais (BALLESTEROS et al., 2017).

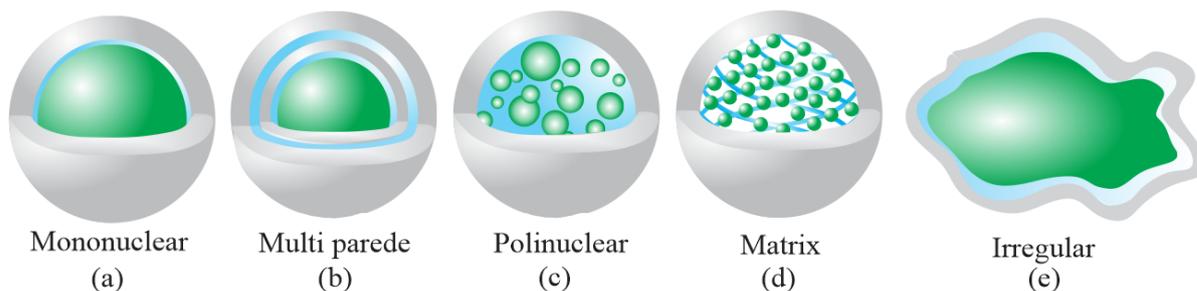
2.1 PROCESSOS DE ENCAPSULAÇÃO

A obtenção de produtos com alto grau de pureza demanda atenção no que se refere à manutenção de sua qualidade, o que torna necessário o emprego de técnicas que propiciem a sua estabilização. Microencapsulação é o processo conformador de invólucros para materiais sólidos, líquidos ou gasosos, mediante revestimento contínuo formando cápsulas de tamanho em escala micrométrica a milimétrica (TYAGI et al., 2011). O material encapsulado pode ser composto por uma única substância ou uma mistura que é liberada de maneira controlada através da parede, constituída pelo material encapsulante. O processo de liberação ocorre em função de condições específicas que envolvem parâmetros do meio de liberação e características intrínsecas das cápsulas. A microencapsulação é uma técnica já empregada para estudos de recobrimento de corantes (JANISZEWSKA-TURAK, 2017), óleos (SHAMAEI et al., 2017), bem como compostos ativos (BALLESTEROS et al., 2017; CILEK et al., 2012; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2018; TSALI; GOULA, 2018).

As técnicas de encapsulação são geralmente usadas com a finalidade de proteger compostos bioativos de condições ambientais adversas. A microencapsulação atua na melhoria da estabilidade, estendendo a vida útil e permite a liberação controlada do material do núcleo, sob condições de um determinado ambiente. Dessa forma, por vezes, pode-se considerar que o

encapsulamento de substâncias naturais apresenta vantagens sobre a utilização da substância natural sem encapsular (SANTOS et al., 2012). Outra vantagem atribuída a encapsulação é a característica de mascarar sabores desagradáveis, oriundos dos compostos bioativos, os quais podem conferir amargor e adstringência característica de polifenóis (BALLESTEROS et al., 2017). A Figura 40, ilustra a formação de microcápsulas, com variedade de morfologia.

Figura 40 – Ilustração das diferentes possíveis morfologias das microcápsulas



Fonte: Adaptado de (PEANPARKDEE; IWAMOTO; YAMAUCHI, 2016).

A morfologia das microcápsulas, pode ser descrita como mononuclear (Figura 40a), multiparede (Figura 40b), poli / multinuclear (Figura 40c), matrix (Figura 40d) ou irregular (Figura 40e) (PEANPARKDEE; IWAMOTO; YAMAUCHI, 2016). Estas características morfológicas das microcápsulas estão associadas aos materiais empregados na encapsulação e as técnicas de encapsulação. Segundo Gharsallaoui e colaboradores (2007), as propriedades do núcleo também podem representar uma alternância na morfologia das microcápsulas. No que diz respeito ao dimensionamento, teoricamente, os diâmetros típicos das microcápsulas estão na faixa de 0,01 e 1.000 μm e a espessura do material da parede está na faixa de 0,5-150 μm (CHENG et al., 2009).

Segundo Tyagi e colaboradores (2011), as técnicas de microencapsulação podem ser classificadas em três grupos: (i) métodos físicos como secagem por atomização, liofilização, precipitação com fluido supercrítico e evaporação de solvente; (ii) métodos físico-químicos, incluindo coacervação, lipossomas e geleificação iônica; (iii) métodos químicos como polimerização interfacial e complexação de inclusão molecular.

A formação de um invólucro em sistema de encapsulação, consiste em revestir uniformemente o material de interesse. O agente encapsulante, utilizado para conferir proteção ao conteúdo do núcleo, não apenas pode mascarar e atenuar fatores ambientais adversos, como também pode representar melhoria qualitativa em função das propriedades que possui com

relação ao material encapsulado. Nesse sentido, a escolha do agente encapsulante representa um fator importante para manutenção das características de interesse no produto.

2.2 AGENTE ENCAPSULANTE

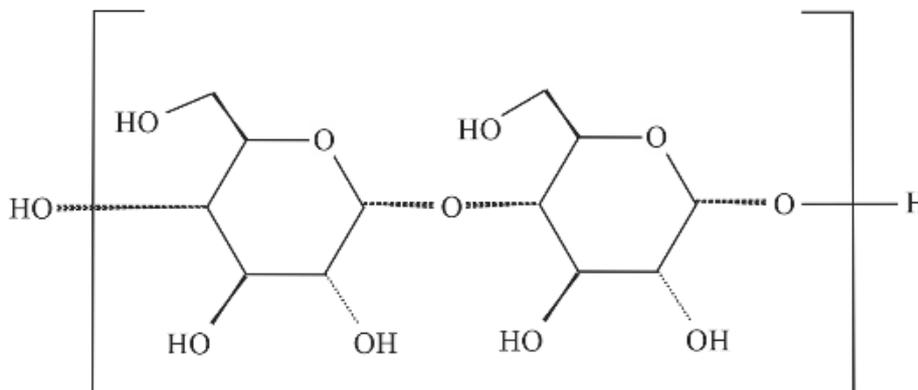
Agentes encapsulantes devem ser capazes de formar um revestimento coeso, além de quimicamente compatível e não reativo com o material do núcleo. Dentre as propriedades de estruturais, a resistência, flexibilidade, impermeabilidade, propriedades ópticas e estabilidade são critérios observados. Materiais de revestimento ideais para a microencapsulação são aqueles que proporcionam a estabilização do material do núcleo, que seja inerte aos ingredientes ativos, propicie liberação controlada sob condições específicas, permita a formação de filme, maleável, insípido, estável e não higroscópico, que não apresente alta viscosidade nas condições de uso e seja econômico (SUGANYA; ANURADHA, 2017).

Portanto, a formação das microcápsulas e suas propriedades de barreira na proteção de compostos de interesse, está intimamente relacionada à escolha do material de revestimento. Aplicações nas áreas farmacêuticas e de alimentos, em virtude de sua complexidade, carecem de estudos de materiais e sistemas de eficiência na proteção dos compostos de interesse. No entanto, vale ressaltar que alguns agentes de revestimento aceitos para encapsulação de medicamentos não são adequados para aplicações de alimentos, a menos que sejam certificados como materiais GRAS (*Generally Recognized As Safe*) (NEDOVIC et al., 2011). Para tanto, diversos estudos elucidam uma gama de materiais para aplicações alimentícias e dentre os mais utilizados estão os polissacarídeos como maltodextrina, goma arábica, amidos modificados e quitosana, alginatos, dextrinas, inulina, entre outros (GOUIN, 2004; NEDOVIC et al., 2011; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016).

A manutenção da qualidade dos produtos encapsulados sob armazenamento inclui estabilidade oxidativa, microbiana, térmica, higroscopicidade, etc. Da Rosa e colaboradores (2014), relatam que a eficiência do processo de encapsulação é altamente dependente do material a ser revestido, bem como do material de revestimento. Sendo assim, a encapsulação de materiais com núcleo composto por substâncias susceptíveis à oxidação, revestimentos multicamadas e camadas grossas fornece proteção mais adequada contra a degradação oxidativa. Dessa forma, para constituir o material de revestimento se destaca o emprego da maltodextrina que é um polissacarídeo, constituídos por unidades de D-glicose ligadas por cadeia α -1,4 com massa molar variável Figura 41. Dentre suas principais vantagens estão o custo baixo e as propriedades para melhorar a solubilidade em água dos materiais do núcleo

hidrofóbico, o que é vital para aumentar a biodisponibilidade (FERNANDES; BORGES; BOTREL, 2014; GOULA; ADAMOPOULOS, 2012; YE; GEORGES; SELOMULYA, 2018).

Figura 41 – Estrutura química da maltodextrina



Fonte: (CARARETO et al., 2010)

A utilização de maltodextrina como material de revestimento na formação de microcápsulas, tem sido estudada para diversas aplicações, dentre os compostos de maior interesse na preservação de suas características estão os benefícios aos compostos fenólicos (BALLESTEROS et al., 2017). Pettinato e colaboradores (2017) relatam a alta capacidade da maltodextrina na conservação da atividade de compostos fenólicos presentes em extratos de borra de café, corroborando com os dados de Souza (2018), que avaliou revestimentos na microencapsulação e concluiu a manutenção da atividade antioxidante do licopeno devido a maior proteção conferida a maltodextrina.

Aplicações industriais, para compostos bioativos oriundos de subprodutos e resíduos agrícolas podem ser usados com sucesso na indústria de alimentos, bem como aplicações em cosméticos e produtos farmacêuticos (GÓMEZ et al., 2018), demonstrando viabilidade da utilização de maltodextrina no encapsulamento de compostos fenólicos e flavonoides (RAMÍREZ; GIRALDO; ORREGO, 2015). Conforme Ozkan e colaboradores (2019), maltodextrina é um material de revestimento muito eficaz na constituição de envoltórios para materiais ativos na matriz de microcápsulas, devido às propriedades físico-químicas, incluindo a microestrutura amorfa, relativa a baixa mobilidade hídrica que gera maior estabilidade à reações bioquímicas desfavoráveis.

2.3 ENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY-DRY*

O princípio do *spray-dry* é uma operação unitária de secagem, onde o produto líquido é atomizado em contracorrente com um gás quente, geralmente ar ou, mais raramente, um gás inerte como o nitrogênio, para obtenção de um pó. A utilização do *spray-dry* além de ser uma tecnologia de custo relativamente baixo, rápida, reprodutível, remete à certa facilidade de escalonamento, quando comparada com outros processos de microencapsulação, justificando a preferência em termos industriais (DE VOS et al., 2010; PU; BANKSTON; SATHIVEL, 2011). A Tabela 17 relaciona as principais etapas e características do processo de microencapsulação desse processo.

Tabela 17 – Principais características do processo *Spray-drying*

Principais Etapas	Vantagens	Desvantagens
Preparo da solução (soluto e encapsulante)	Opera com diferentes materiais de revestimento	Pode degradar componentes.
Atomização	Eficiência de encapsulação; Estabilidade do produto final.	Difícil ajuste no controle do tamanho de partícula.
Secagem	Baixo custo; Aumento de escala; Produção contínua.	

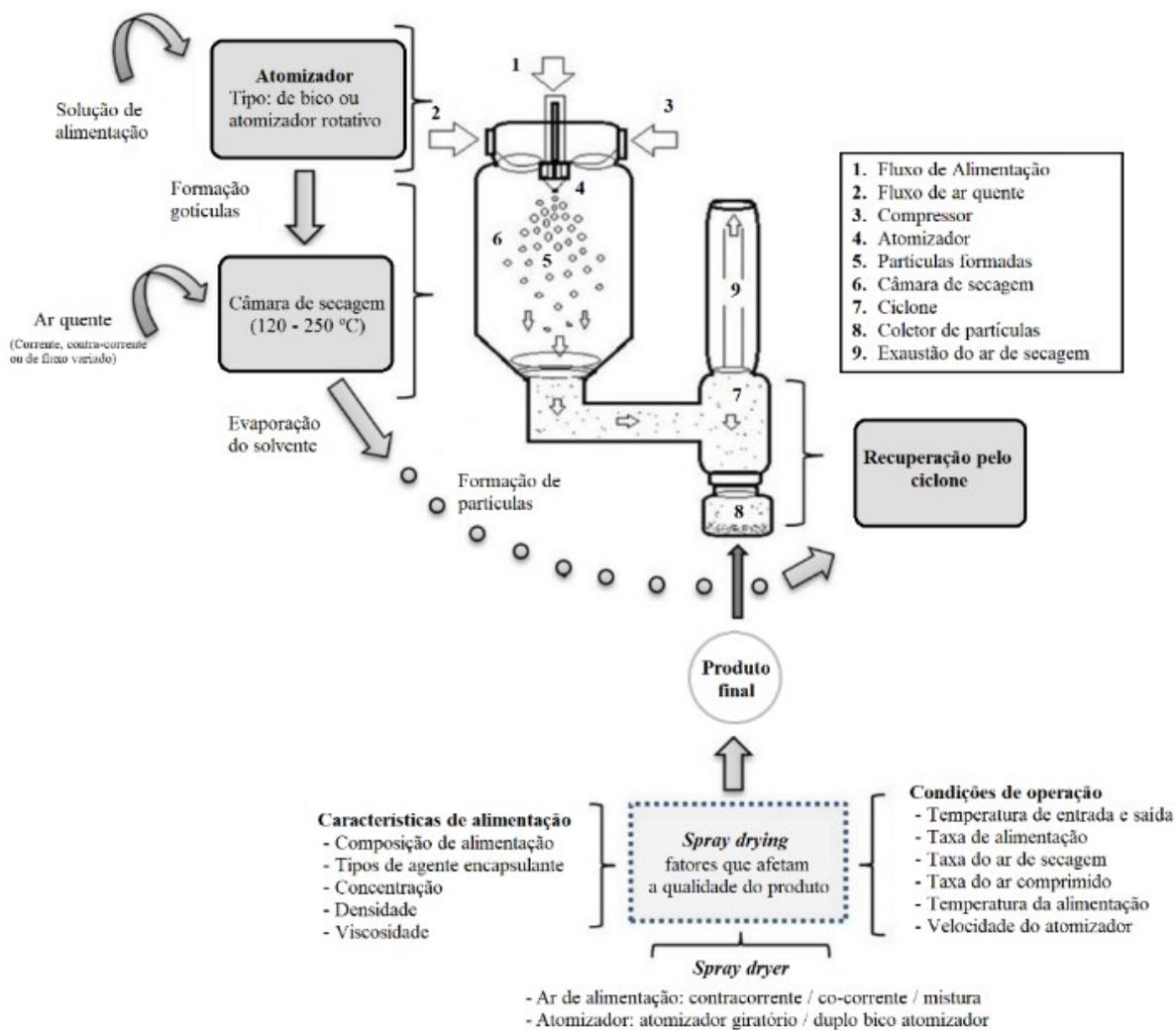
Fonte: Adaptado de (MAHDAVI et al., 2014)

A secagem que ocorre no material atomizado ou pulverizado, dependendo de suas características e das condições de operação, propiciam a geração de um pó muito fino (10–50 μm) ou partículas de tamanho grande (2–3 mm), o que permite o emprego do método para a obtenção de encapsulação de alimentos e compostos de interesse (GHARSALLAOUI et al., 2007; PEANPARKDEE; IWAMOTO; YAMAUCHI, 2016).

Na técnica para formação de micropartículas por atomização em *spray-dryer* são previamente preparadas soluções, onde o material de núcleo, o qual se objetiva conferir o revestimento, é solubilizado, disperso ou emulsionado com o agente encapsulante (GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016). A formação de microcápsulas se dá pela atomização (gotículas) da solução contendo a mistura do material de núcleo e encapsulante em torre com fluido de secagem, normalmente ar quente, conforme ilustrado na Figura 42. O contato das gotículas com o ar de secagem promove a evaporação do solvente, obtendo-se a

rápida solidificação das gotículas que depois serão recolhidas no ciclone (ESTEVINHO et al., 2013; GHARSALLAOUI et al., 2007).

Figura 42 - Diagrama esquemático da secagem por atomização e fatores que afetam a qualidade do produto



Fonte: Adaptado de Shishir e Chen (2017)

Nas partículas formadas por *spray drying*, o núcleo é retido em uma rede contínua de matriz polimérica, a qual tem como principal vantagem a fácil reconstituição, importante para aplicações em líquidos e pastosos, ou em pós instantâneos. Essa é uma característica importante para compostos instáveis e que se pretende uma liberação controlada sob determinadas condições ambientais (OZKAN et al., 2019). A reconstituição em função da solubilização é dependente das características do material de núcleo, bem como dos parâmetros de processamento no equipamento.

Para processos industriais é importante ressaltar a escolha do agente encapsulante quanto a propriedade veicular, ou seja, os materiais que durante o processo de secagem por atomização, irão propiciar escoamento das partículas atomizadas, sem aglomerações ou incrustações nas paredes da torre de secagem. Nesse quesito a maltodextrina é um dos materiais mais utilizados, devido seu baixo peso molecular, caracterizado por uma baixa temperatura de transição vítrea (JANISZEWSKA, 2014).

O processo de atomização durante a secagem tem como objetivo aumentar a área de transferência de calor e massa entre o líquido e o ar de secagem, sendo a definição dos parâmetros de processo, exercer influência direta nas características de tamanho de partículas formada. O dimensionamento das partículas formadas deve-se principalmente aos parâmetros de velocidade de alimentação da solução e rotação do atomizador: onde quanto maior a velocidade do disco, menores serão as partículas (JANISZEWSKA-TURAK, 2017; VILA; CHAUD; BALCÃO, 2015).

A temperatura do ar de secagem é um dos parâmetros de maior influência no processo de microencapsulação. A morfologia das cápsulas formadas está intimamente relacionada às propriedades de barreira da partícula, no que se refere aos processos de transferência de massa que envolvem o material de parede e do núcleo, que por sua vez está intimamente relacionada a temperatura do processo. A amplitude da temperatura pode causar variações na espessura do material de revestimento, uma que as altas temperaturas reduzem o tempo de formação da membrana de superfície, o que também pode representar um problema, por acelerar as mudanças químicas do núcleo (MAHDAVI et al., 2014; RAJABI et al., 2015).

No interior da câmara de secagem a temperatura elevada ocasiona a evaporação do solvente. A taxa de evaporação é constante, dessa forma os materiais precipitam e aumentam a concentração, ao atingir a saturação máxima começa a solidificar e formar o revestimento. Nesse processo o solvente se difunde do centro da partícula para a superfície e evapora, tornando a película de revestimento uma camada contínua, formando assim as microcápsulas, que são coletadas após separação do ar por ciclone (GONÇALVES; ESTEVINHO; ROCHA, 2016).

O desenvolvimento da técnica de microencapsulação por *spray-dry* em relação ao futuro, ainda possui desafios a serem superados. Dentre as mais significativas estão a minimização do emprego de solventes orgânicos na obtenção dos solutos, incorporando o conceito de processamento de alimentos verdes e tornando o processo passível de ser considerado ambientalmente seguro (GÓMEZ et al., 2018). De acordo com pesquisas recentes, o método de secagem por pulverização é mais adequado para o encapsulamento de compostos fenólicos

obtidos a partir de fonte vegetal, com uma maior taxa de retenção e bioatividade preservada (ABRAHÃO et al., 2019; BALLESTEROS et al., 2017; KALUŠEVIĆ et al., 2017; PAINI et al., 2015a; REZENDE; NOGUEIRA; NARAIN, 2018; SOUZA et al., 2018).

2.4 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL ENCAPSULADO

A obtenção de microcápsulas com potencial ação antioxidante, atribuída à incorporação de extrato de *S. rhombifolia*, sugere que o desenvolvimento de um produto com importantes propriedades funcionais, conforme descrito no Capítulo III deste estudo. Desse modo, caracterizar o material obtido, além de estudar a eficiência do processo de microencapsulação de compostos fenólicos obtidos por meio de extrações a alta pressão, permite estimar por quais processos e alimentos esse produto possa ser incorporado.

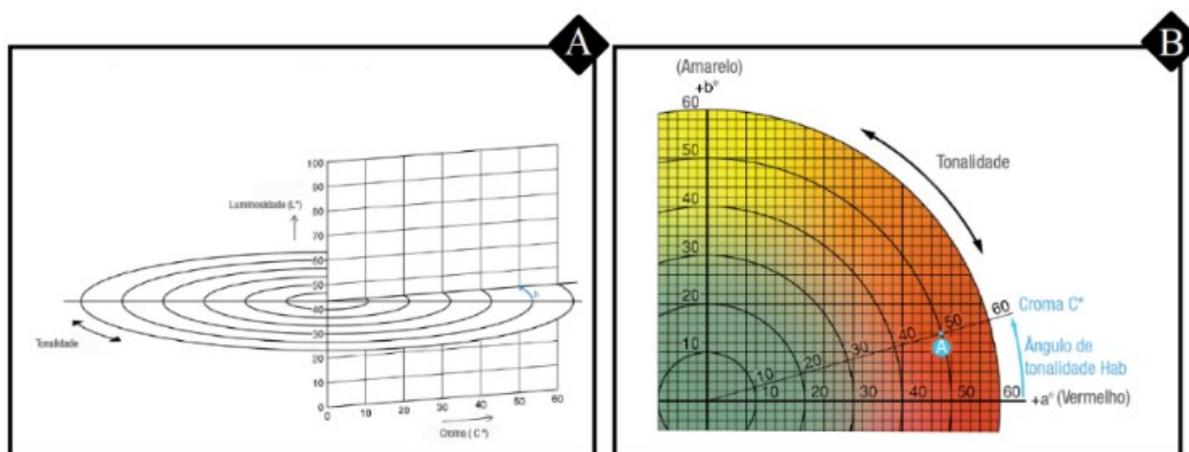
A escolha de métodos adequados de caracterização das partículas proporciona clareza e objetividade no entendimento das propriedades destes materiais. Para tanto, técnicas de colorimetria e microscopia foram utilizadas com a finalidade de avaliar a cor, morfologia e tamanho de partícula, parâmetros estes que podem ser determinantes na escolha de sua aplicação. Além disso, foram realizadas análises de microscopia de fluorescência que permitem verificar a localização de compostos que apresentem fluorescência permitindo avaliar o processo de encapsulação. Com relação às propriedades físicas e estruturais, as análises termograviméticas (TG), calorimetria diferencial exploratória (DSC), análise de grupos funcionais por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) permitem a caracterização das partículas no que se refere às temperaturas de degradação térmica, temperatura de fusão e/ou transição vítrea e espectros de absorção IV. Além disso avaliou-se a capacidade de adsorção umidade e higroscopicidade das partículas uma vez que estas propriedades são de grande importância na manutenção da qualidade e funcionalidade intrínseca do material microencapsulado.

2.4.1 Colorimetria

A colorimetria é o estudo que possibilita mensurar por meio da quantificação da cor baseada na teoria de três componentes da visão, dos quais o olho humano possui receptores (vermelho, verde e azul) e que considera que todas as cores são misturas dessas três cores primárias (GUELI; GALLO; PASQUALE, 2018). O sistema de cores CIELAB é um sistema de medição de cores, muito empregado para análises colorimétricas pois aproxima-se da

maneira como o olho humano percebe as cores (HUNT; POINTER, 2011). O método baseia-se na teoria da natureza de fotorreceptores cone que permitem perceber simultaneamente cores entre o vermelho e verde, amarelo e azul, ou branco ao preto, diferentemente da percepção humana, que não os percebe (HURVICH; JAMESON, 1957). O sistema CIELAB define as cores em três dimensões: luminosidade (L^*), coordenada vermelho-verde (a^*) e coordenada amarelo-azul (b^*), conforme Figura 43.

Figura 43 - Representação gráfica do ângulo de matiz e do cromac no espaço de cores do CIELAB.



Fonte: (MINOLTA, 2007)

Os valores dos eixos a^* e b^* variam de aproximadamente -128 a +128. O eixo referente à luminosidade é perpendicular aos parâmetros a^* e b^* e varia de 0 a 100, conforme apresentado na Figura 43A, bem como apresenta a escala de cromacidade (C^*), que indica a intensidade da cor analisada. Os dados na análise colorimétrica atribuídos à escala de cores CIELAB compõem um sistema de coordenadas cartesianas tridimensionais, permitindo a análise quantitativa dos dados (MCGRATH; BECK; HILL, 2017). No espaço CIELAB, a distância de cor tridimensional entre dois pontos é conhecida como 'delta E' (ΔE). O olho humano não treinado geralmente não pode diferenciar entre duas cores que possuem um ΔE menor que 2,0 unidades CIELAB, embora este valor varie entre as cores (MELGOSA et al., 1997).

A análise colorimétrica, mesmo para produtos e materiais que fogem do campo de visão do ser humano, são de grande importância no âmbito industrial, principalmente no que diz respeito à padronização de produção e ajuste fino dos processos para áreas que demandam sensibilidade de especificação. Além disso destacam-se as análises de cor através de colorímetros por se tratar de métodos não destrutivos e fácil de quantificação. As medidas em colorímetro são consideradas o melhor método para as amostras com cor homogênea (RANA;

PRADHAN; MISHRA, 2019). Na indústria de alimentos a análise do padrão colorimétrico também é importante, pois a cor representar ser um fator decisivo nas escolhas do consumidor. Padrões de cores estão associados à qualidade e genuinidade, podendo estar correlacionada com a presença de um perfil químico característico (pigmentos) (PATSILINAKOS et al., 2018).

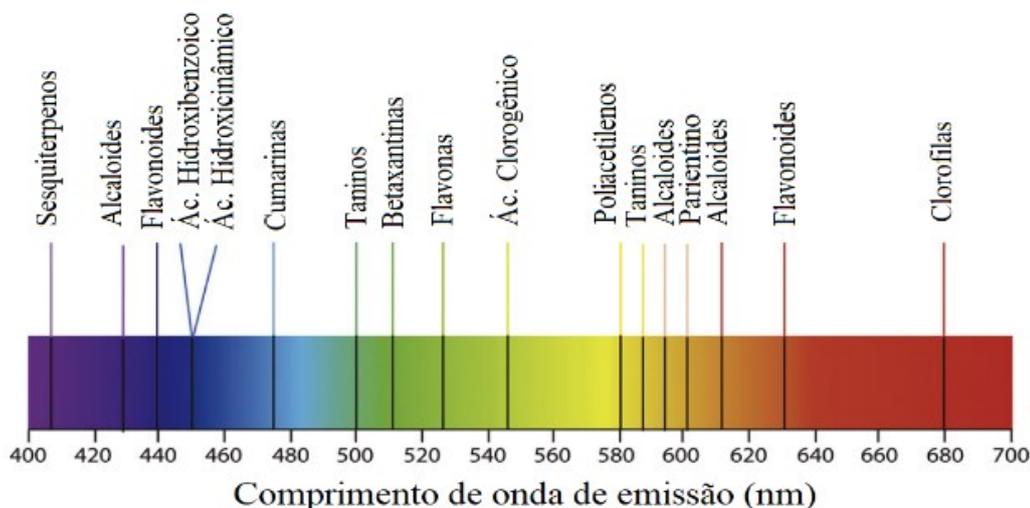
2.4.2 Microscopias de Fluorescência

Fluorescência é uma emissão de luz a curto prazo (com duração não superior a 10^{-8} s após a excitação) causada pela absorção de radiação eletromagnética de luz visível, infravermelha ou ultravioleta. Análises quantitativas são atribuídas à espectroscopia de fluorescência e a microscopia de fluorescência aos dados qualitativos (MASLANKA; KWOLEK-MIREK; ZADRAG-TECZA, 2018). Alta sensibilidade, rapidez e precisão dos ensaios de fluorescência são os principais motivadores por esta técnica ser empregada em estudos analíticos de bioquímica e biologia celular (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 2015).

Segundo Garía-Plazaola et al (2015), quando os termos fluorescência e plantas aparecem juntos, a principal relação que é feita refere-se às propriedades fluorescentes da clorofila, usada intensivamente por pesquisadores como uma ferramenta que permite a avaliação não invasiva da fotossíntese do estado fisiológico das plantas. Assim como ocorre com a clorofila, muitos outros compostos podem ser identificados através desta técnica, seja pela incorporação de reagentes corantes ou mesmo por suas propriedades de autofluorescência.

Alguns compostos de origem vegetal emitem luz visível quando irradiadas, essa propriedade denomina-se autofluorescência, é causada por certos constituintes celulares que atuam como fluoróforos endógenos (MONICI, 2005), podendo ser facilmente observada a olho nu sob certas condições. Este é o caso de compostos fenólicos (por exemplo, antocianinas, flavonóides, taninos, ácidos cinâmicos), alcaloides (por exemplo, betalains), terpenóides e porfirinas (por exemplo, clorofila, catabólitos da clorofila) (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 2015). A Figura 44 apresenta uma visão geral dos fluoróforos vegetais e respectivos comprimentos de onda de ocorrência.

Figura 44 - Paleta de emissão de fluorescência máxima de fluorocromos de ocorrência natural em plantas



Fonte: Adaptado de García-Plazaola et al. (2015)

Compostos autofluorescentes incluem componentes amplamente distribuídos em todos os tipos de células, como aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptofano, tirosina), vitaminas (riboflavina, piridoxina, tiamina), coenzimas e receptores de elétrons (dinucleotídeo flavina adenina ou FAD; nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido com seu derivado de fosfato NAD (P) H) (ANDERSSON et al., 1998; MONICI, 2005).

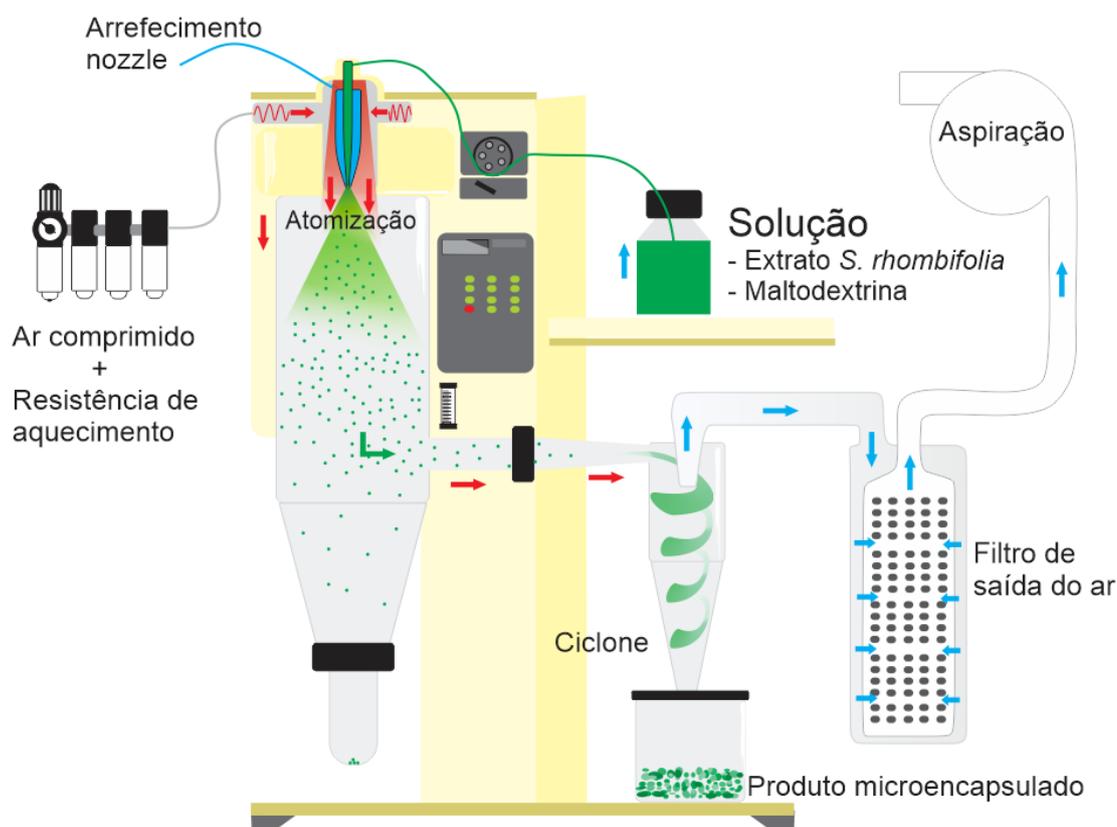
A emissão de luz possibilita identificação da composição quando atribuída ao espectro de fluorescência de excitação e emissão (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 2015). Vidot e colaboradores (2019) reportam em seu estudo que diferentes comprimentos de onda correspondem a distintos compostos químicos. Para tanto, registraram analiticamente a partir de compostos padrões, as respostas de comprimento de onda máximas para cada padrão analisado, por meio de uma análise de espectro. Dessa forma, mesmo que a associação de compostos específicos com determinados comprimentos de onda de emissão ainda seja difícil, devido à largura dos espectros e sobreposições, é possível assegurar a distinção de famílias de compostos, tais como flavanóis (incluindo taninos condensados), ácidos fenólicos, antocianinas e flavonóis. Assim, uma maior confiabilidade é atribuída ao analisar micrografias de fluorescência, permitindo vincular uma faixa mais estreita de ocorrência de certos compostos, como por exemplo o glicosídeo da quercetina no comprimento de onda de 260-410 nm (VIDOT et al., 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS CÁPSULAS

Para obtenção das cápsulas inicialmente foi preparada a solução aquosa de maltodextrina DE10, MOR-REX 1910 (Corn Products, Brasil) padronizada em 20 % (m/m) que foi utilizada para todas as formulações estudadas. Foram preparadas três soluções para alimentar o *spray-dryer*: uma solução contendo somente maltodextrina (MSD) (Controle) e duas soluções contendo maltodextrina com incorporação de extrato de *S. rhombifolia* obtido através de PLE nas proporções de 2,5 e 5,0 % (ME 2,5 e ME 5,0, respectivamente). Cada solução foi homogeneizada em Ultraturrax IKA T25 a 14.000 g por 5 minutos e posteriormente alimentada a um *spray-dryer* de bancada (Buchi, B-191) do Laboratório de Materiais Poliméricos – POLIMAT/UFSC, operado com temperatura de entrada de ar de 120 ± 2 °C, temperatura de saída de ar de 72 ± 2 °C, fluxo de ar de aproximadamente 30 m³/h, taxa de alimentação de 5 mL/min e pressão de atomização de 0,7 MPa, conforme aparato apresentado na Figura 45. O material seco (cápsulas) foi armazenado em frasco âmbar até o momento das análises.

Figura 45 – Diagrama ilustrativo do *spray-dry* para formação de microencapsulados



Com os valores da massa obtida após a secagem por pulverização (*spray-dry*), foi possível a determinação da eficiência do processo, mediante a aplicação da Equação 54.

$$Y\% = \frac{P}{T} * 100 \quad (54)$$

Onde:

P = Massa de material obtido após secagem (g)

T = Massa de sólidos na solução (g)

3.4 CARACTERIZAÇÃO DAS CÁPSULAS

3.4.1 Caracterização colorimétrica das microcápsulas

A determinação dos parâmetros de cor foi realizada através da medida instrumental por colorímetro (Minolta® Color Reader, modelo CR400, Osaka, Japão), com fonte de luz padronizada, usando-se as coordenadas L^* , a^* , b^* do sistema CIELab. O procedimento foi conduzido no Laboratório de Bioprocessos e Tecnologia de Alimentos – CCA/UFSC. As amostras foram colocadas em superfícies planas e realizadas leituras de refletância. As leituras foram realizadas com triplicata para cada amostra, em distintos pontos de contato. A partir destes dados foram calculados os índices de amarelecimento (Y_i), transparência (W_i) e diferença de cor (ΔE) através das Equações (55), (56) e (57) (AHMADI *et al.*, 2012).

$$Y_i = \frac{142,86}{L^*} \quad (55)$$

$$W_i = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad (56)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (57)$$

3.4.2 Morfologia e tamanho das microcápsulas

Morfologia e o tamanho de partícula das microcápsulas foram observadas análise por MEV (JEOL JSM 6390 LV, Akishima, Japão) foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil), com o conjunto operado a 10 kV, com aumento de $\times 1000$. As amostras foram fixadas nos *stubs* e, devido as amostras apresentarem baixa condução elétrica, recobertas com uma fina camada de ouro usando um metalizado (Baltec SCD 0005). O dimensionamento das partículas, foi determinado conforme descrito por Zhou e colaboradores (2017), por meio do software ImageJ (Versão 1.37 v, National Institutes of Health, EUA), sendo aferidas cerca de 200 partículas de cada uma das diferentes microcápsulas produzidas para calcular o diâmetro médio (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2004).

3.4.3 Microscopia de fluorescência

Microscopias de fluorescência das microcápsulas foram obtidas em Microscópio vertical (Olympus BX41, Tokyo, Japão) do Laboratório multiuso de estudos de biologia - LAMEB (Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil), com o conjunto de objetivas de 40x. As amostras foram fixadas em lamínulas e manualmente alteradas as emissões de luz em campo claro até os diferentes comprimentos de onda UV.

3.4.4 Cinéticas de Adsorção de Umidade

Os materiais microencapsulados foram previamente acondicionados em dessecador por 7 dias, com troca da sílica gel nesse intervalo. Após garantida a estabilização da umidade inicial das amostras, alíquotas de 1 g foram pesadas em cadinhos de porcelana e levados à estufa 105 °C por 24h para determinar o valor de X_0 (umidade no tempo zero). Outros cadinhos foram preparados com massa aproximada de 1 g de cada amostra, as quais foram acondicionados em recipientes hermeticamente fechados, sem circulação de ar, contendo soluções saturadas, conforme Tabela 18 e mantidos em estufa B.O.D com temperatura constante de 25 °C. Os cadinhos foram pesados em balança analítica em intervalos de tempo de 30 min nas primeiras 3 h de cinética, seguidas de 3 aferições de massa com 45 min de intervalo entre si e na sequência pesagens à cada 1 h até observar estabilização das massas aferidas, totalizando 8 h e 25 min de cinética.

Tabela 18 – Soluções saturadas de sais e suas respectivas umidades relativas à 25 °C

Soluções saturadas de sais	UR (%)
Cloreto de Lítio (LiCl)	11
Cloreto de Magnésio (MgCl ₂)	33
Carbonato de Potássio (KCO ₃)	43
Brometo de Sódio (NaBr)	58
Cloreto de Sódio (NaCl)	75
Brometo de Potássio (KBr)	80
Cloreto de Bário (BaCl ₂)	90

Fonte: (MARQUES; JORGE; JORGE, 2014)

A partir dos dados experimentais de ganho de massa no tempo e da umidade inicial (X_0) foi possível determinar as cinéticas de adsorção de umidade. As curvas cinéticas foram expressas em umidade em base seca por tempo, também foram ajustados pontos através do modelo de Peleg, conforme Equação 58, mediante a utilização da rotina de ajuste não linear do Solver Excel 2016.

$$X(t) = X_0 + \left(\frac{t}{k_1 + k_2 t} \right) \quad (58)$$

Onde:

$X(t)$ = teor de água do produto para um dado instante de tempo (g água/g sólido seco)

X_0 = Umidade inicial do produto (g água/g sólido seco)

t = Tempo (h)

k_1 = Constante de Peleg ($\text{h} \cdot \text{g}_{\text{ss}} \cdot \text{g}_a^{-1}$)

k_2 = Constante de Peleg ($\text{g}_{\text{ss}} \cdot \text{g}_a^{-1}$)

Os cálculos das propriedades termodinâmicas assumem que a adsorção de água é um processo que ocorre em um material sólido inerte, porque considera alcançado o equilíbrio entre as moléculas de água adsorvidas no material sólido e as moléculas de água ainda no estado vapor ao redor do material. Além disso, é considerado que o vapor de água tem um comportamento de gás ideal, uma vez que o processo ocorre a baixa pressão e que somente a adsorção de água (fisissorção) ocupa a superfície sólida (LIÉBANES et al., 2006).

Os fenômenos termodinâmicos diferencial e integral das microcápsulas com extrato de *S. rhombifolia* foram calculadas utilizando a metodologia proposta por Beristain et al. (1994). A energia livre (ΔL) relacionada com o fenômeno de adsorção de água foi calculada usando a equação de Gibbs, conforme Equação 59 (IGLESIAS; CHIRIFE; VIOLLAZ, 1976):

$$\Delta G = RT \ln(A_w) \quad (59)$$

Onde:

T : temperatura absoluta (K);

R : constante universal de gás ($\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$);

A_w : atividade de água (adimensional).

3.4.5 Isotermas de adsorção de Umidade

Para determinação das isotermas de adsorção de umidade foi empregado o método gravimétrico estático com soluções saturadas de sais. Portanto o aparato experimental que resultou nos dados cinéticos de adsorção, neste estudo fornecem também informações para o delineamento das isotermas com sete condições distintas de umidade relativa. A umidade de equilíbrio em base seca, foi determinada pela diferença entre a massa da amostra no equilíbrio e a massa seca, determinada em estufa à 105 °C / 24 h, conforme Equação 60.

$$X_{eq} = \left(\frac{m_{eq} - m_s}{m_s} \right) \quad (60)$$

Onde:

X_{eq} = Umidade de equilíbrio em base seca

m_{eq} = Massa da amostra no equilíbrio

m_s = Massa seca da amostra

Através das umidades de equilíbrio (X_{eq}) foram construídas as respectivas curvas de isoterma de adsorção e os ajustes matemáticos feitos através do modelo de Guggenheim, Anderson e Boer (GAB) e de Brunauer, Emmett e Teller (BET), conforme Equações 61 e 62, respectivamente.

$$X_{eq} = \frac{X_m C K A_w}{(1 - K A_w)(1 - K A_w + C K A_w)} \quad (61)$$

$$X_{eq} = \frac{X_m C A_w}{(1 - A_w)[1 - (C - 1)A_w]} \quad (62)$$

Onde:

X_{eq} = umidade de equilíbrio (g água/ g de sólido seco)

C, K e X_m = constantes de ajuste do modelo, sendo que, C está relacionada ao calor de sorção da camada molecular, K está relacionada ao calor de sorção nas multicamadas, X_m está relacionado à umidade da monocamada (g água/ g de sólido seco)

A_w = atividade de água do sistema.

3.4.6 Capacidade de Retenção de Água (CRA) e óleo (CRO)

Ambas capacidades foram determinadas de acordo com o método de Chau, Cheung e Wong (1997). Assim, alíquotas de 1 g de cada amostra foram colocadas sob agitação em vortex por 1 min com 10 mL de água destilada, para determinação da CRA, e outra série de amostras em ácido oleico (densidade 0,895 g·mL⁻¹, Sigma) para a determinação da CRO. Após o processo de agitação as suspensões foram centrifugadas a 2200 g durante 30 min (Centrífuga Quimis, Modelo Q222-T, 15,3 cm de raio, São Paulo, Brasil) e os volumes do sobrenadante foram medidos. Os ensaios em triplicata resultaram em CRA e CRO expressas em g de água por g de amostra, e g óleo por g de amostra, respectivamente.

3.4.7 Caracterização de grupos funcionais por infravermelho (FTIR)

A caracterização estrutural por grupos funcionais das micropartículas, bem como de seus materiais isolados foi concluída através da análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). As medidas foram feitas com um espectrômetro FTIR, Agilent, modelo Carry 660. As amostras foram misturadas com KBr e analisadas no módulo de reflectância difusa. Para cada amostra foi feito a média de 50 varreduras no intervalo 4000 - 400 cm⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹ foi feita para cada amostra.

3.4.8 Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de TG e DSC das microcápsulas foram obtidas, utilizando-se um equipamento Netzsch® Jupiter STA 449 F3 (Selb, Germany), calibrado com padrão referência de índio puro (99,99 %). Amostras de aproximadamente 10 mg foram colocadas em placas de alumina, sob atmosfera de nitrogênio (100 mL/ min) e aquecidas entre 30 °C e 400 °C com taxa de aquecimento de 10 °C/ min.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de colorimetria foram comparados por análise unidirecional de variância (ANOVA). Quando se verificaram diferenças significativas ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$) entre as médias dos resultados, deu-se continuidade à análise aplicando o teste de Tukey. Dessa forma, a análise estatística foi realizada para detectar diferenças significativas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A produção de materiais encapsulados mediante o processo de atomização em *spray-dry* remete distintas vantagens como custo-benefício, consumo conveniente, facilidade de manuseio, vida útil mais longa e proteção dos principais componentes bioativos. A secagem por pulverização é um dos processos mais amplamente utilizados para a secagem de líquidos e extratos devido à alta eficiência de evaporação (ZHANG et al., 2018) e muito pouco tempo de contato com o meio de secagem, proporcionando baixo custo de processamento, alta capacidade de produção e produtos de alta qualidade.

A caracterização do material encapsulado revela as influências do processo de formação de partículas, bem como de rendimento. Os parâmetros de secagem (especialmente as condições da secagem por pulverização, tais como temperaturas de entrada e saída, vazão de alimentação, fluxo de ar e umidade, tamanho de partícula etc.), juntamente com as propriedades dos materiais da parede e do núcleo, especialmente no que se refere as características de emulsão, são fatores que podem afetar a eficiência do encapsulamento (MAHDAVEE KHAZAEI et al., 2014).

Neste estudo a eficiência do processo de atomização apresentou valores de 42,03, 58,88 e 64,79 %, para MSD, ME 2,5 e ME 5,0, respectivamente. Corroborando com o relatado por Mahdavi et al. (2016) e Shu et al (2006), indicado a razão de $\frac{1}{4}$ de material de núcleo em relação à agente encapsulante, como a melhor correlação obtida em termos de rendimento. Os valores de rendimento de 60-80 % em pulverizadores de escala laboratorial, são indicativos de bons resultados para processos de escala industrial (ISLAM; EDRISI; LANGRISH, 2013).

Os valores de rendimentos mais baixos obtidos no *spray-drying* podem estar relacionados com a maior quantidade de água na composição, conferindo ao produto final certa viscosidade, atribuída a propriedade plastificante que a água exerce no meio (ZHANG et al., 2018). Dessa forma, atribui-se aos maiores rendimentos a vantagem também das melhores características do material encapsulado, tendo em vista a maior dispersividade e garantia de manutenção qualitativa em função do tempo, possível de ser verificada pelas temperaturas de degradação.

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROCAPSULAS

4.1.1 Determinação dos parâmetros de cor

Os parâmetros de cor são de grande importância na análise de produtos destinados a aplicação em alimentos. Estes parâmetros permitem que seja mensurada a variação total da cor relacionada a diferentes condições de produção a partir das coordenadas L^* , a^* e b^* , bem como dos índices de amarelecimento e de branco. A Tabela 19 apresenta os resultados das medições conforme os parâmetros de cor obtidos a partir da avaliação das partículas microencapsuladas.

Tabela 19 - Parâmetros de Cor L^* , a^* , b^* e Variação Total de Cor (ΔE) dos materiais

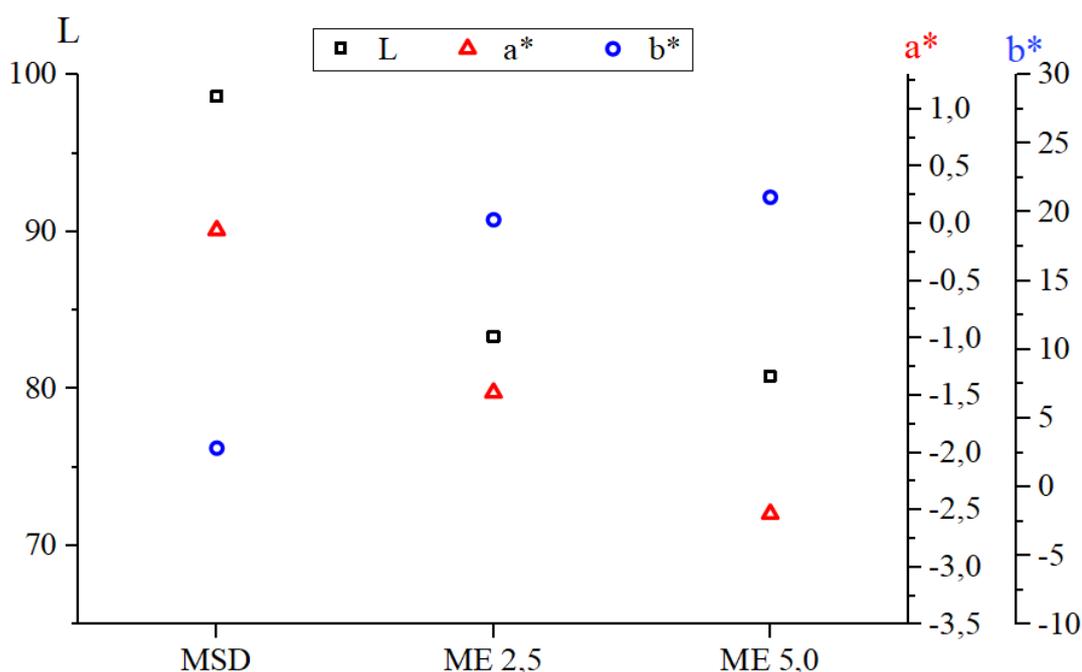
Parâmetro	MD	MSD	ME 2,5	ME 5,0	Extrato
L^*	96,80 ^b ± 0,09	98,61 ^a ± 0,18	83,29 ^d ± 0,37	80,75 ^c ± 0,25	20,47 ^c ± 0,81
a^*	0,05 ^b ± 0,02	-0,06 ^b ± 0,03	-1,48 ^c ± 0,07	-2,53 ^d ± 0,03	2,48 ^a ± 0,09
b^*	6,65 ^c ± 0,06	2,83 ^e ± 0,27	19,45 ^b ± 0,11	21,08 ^a ± 0,13	5,49 ^d ± 0,85
ΔE	5,82 ^d ± 0,09	1,62 ^e ± 0,32	24,18 ^c ± 0,28	27,16 ^b ± 0,26	79,06 ^a ± 0,77
C^*	6,65 ^c ± 0,06	2,74 ^d ± 0,42	19,48 ^b ± 0,13	21,23 ^a ± 0,13	5,93 ^c ± 0,44
h°	89,57 ^d ± 0,28	91,17 ^c ± 0,72	94,36 ^b ± 0,23	96,85 ^a ± 0,07	62,23 ^c ± 0,81
Y_i	9,81 ^d ± 0,10	4,11 ^e ± 0,40	33,36 ^c ± 0,27	39,29 ^b ± 0,33	40,61 ^a ± 1,25
W_i	92,62 ^b ± 0,09	96,84 ^a ± 0,31	74,32 ^c ± 0,27	71,34 ^d ± 0,26	20,22 ^e ± 0,78

*Letras iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre os resultados ($p < 0,05$)

Fonte: O autor.

Com a análise dos materiais segregados e das microcapsulas, foi possível identificar e quantificar a diferença ($p > 0,05$) quanto ao parâmetro de luminosidade (L^*), entre todos tratamentos avaliados. Os resultados corroboram com o descrito por Bernardes e colaboradores (2019), indicando que a luminosidade foi influenciada pela razão utilizada do agente encapsulante e pela sua cor inicial. No entanto, vale ressaltar que nos tratamentos realizados somente com a maltodextrina, também foram apresentadas diferenças, sendo que MSD apresentou maior índice de luminosidade quando parado com o produto original. A Figura 46 auxilia na interpretação das diferenças quantificadas na leitura colorimétrica.

Figura 46 - Valores de colorimetria realizada comparando as partículas microencapsuladas *spray-drying* quanto aos parâmetros de cor L^* , a^* e b^*



Fonte: O autor

Os valores obtidos com relação aos parâmetros referentes ao espectro de cores, apresenta para a^* , componente de cor que varia de verde (negativo) a vermelho (positivo), que o material ME 5,0 possui o maior valor com tendência à coloração verde, associado à maior incorporação percentual do extrato de *S. rhombifolia*. Quanto ao parâmetro b^* , que está relacionado à variação do amarelo (positivo) ao azul (negativo), observou-se que o controle (MSD), contendo somente maltodextrina apresentou maior tendência à cor amarela uma vez que apresentou valores positivos deste parâmetro. Portanto, todos valores dos materiais microencapsulados encontram-se dispostos no segundo quadrante da escala *CieLab*.

A variação de cor (ΔE) das microcápsulas está relacionada às diferenças nas estruturas das microcápsulas, quantidade de material do núcleo e da parede (KANG et al., 2019). Neste estudo, a colorimetria apresenta o comportamento de neutralização da cor, uma vez que os materiais microencapsulados apresentaram valores significativamente ($p > 0,05$) inferiores quando comparado ao componente de núcleo da partícula, demonstrando uma tendência à estabilização da variação de cor para as microcápsulas. Esse resultado está em acordo com o obtido por Santos e colaboradores (2017), ao avaliar ΔE de extratos hidroalcoólicos de amora-preta, revestidos com maltodextrina, apontando maior estabilidade de cor aos materiais microencapsulados. Dessa forma, esses resultados contribuem para a confirmação da formação

do invólucro de maltodextrina, comportamento que também pode ser atribuído as avaliações de Índice de Amarelecimento (Y_i) e Índice de Branco (W_i).

A cromaticidade (C^*) indica a intensidade da cor dos produtos, portanto nesse quesito, ME 5,0 correspondeu à maior concentração de cor, com predominância de cor intensa. Por ângulo de matiz (h°), as amostras de Malto Puro e MSD permaneceram indicadas na tonalidade próxima ao amarelo. ME 2,5 e ME 5,0 corroboram com o relatado por De Souza (2015), indicando que a cor do material encapsulado influenciará e predominará na partícula, neste caso apresentando as tonalidades de verde. Desse modo, podem às microcápsulas de composto fenólico, representar uma potencial utilização como um corante verde natural na indústria alimentar.

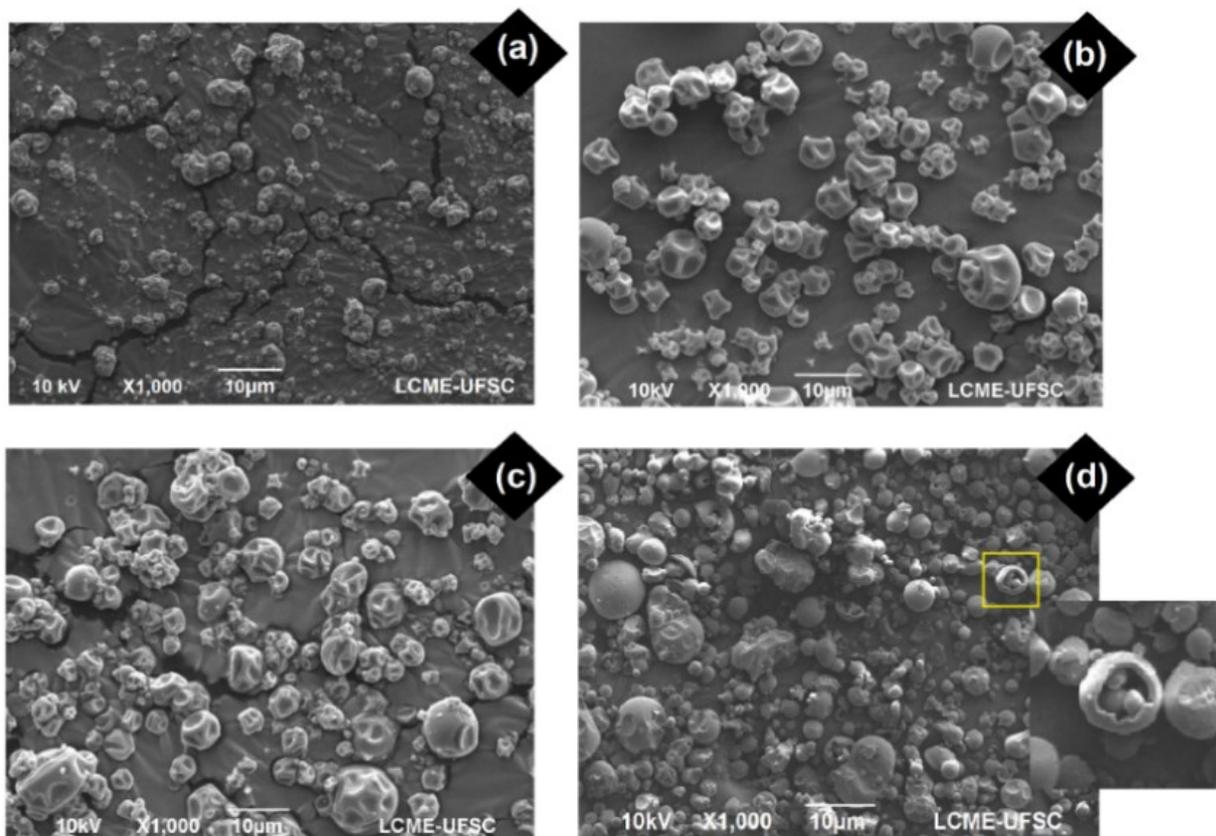
4.1.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Estudar a microestrutura do material encapsulado ou pó seco, contribui para compreender os efeitos sobre as propriedades físico-químicas, incluindo o tamanho das partículas e forma (TONTUL; TOPUZ, 2017). O tamanho das partículas pode influenciar as propriedades de armazenamento, manuseio, transporte e retenção de bioativos (JANISZEWSKA-TURAK et al., 2017; SHI; FANG; BHANDARI, 2013). Portanto neste estudo, a análise das imagens MEV se faz necessário de modo para a manutenção da qualidade do extrato encapsulado.

As micrografias obtidas por meio da análise MEV do extrato de *S. rhombifolia* encapsulado com maltodextrina, são apresentadas na Figura 47 pela ordem: (a) maltodextrina em sua forma original; (b) maltodextrina pura após ser atomizada em *spray-dry*, que neste estudo foi utilizada como controle; (c) cápsulas com 2,5 % de extrato e (d) cápsulas com 5,0 % de extrato. Após a atomização a maltodextrina forma partículas de superfície irregular, característica de particulados secos por *spray-drying* (ABRAHÃO et al., 2019; CHURIO; VALENZUELA, 2018; WANG et al., 2017; ZHANG et al., 2018).

Quando a concentração de extrato aumentou Figura 47(d), a morfologia das partículas modificou-se apresentando características mais esféricas. Outro fato interessante a ser destacado na Figura 47(d), é a presença de cápsulas fragmentadas, permitindo visualizar que o extrato de *S. rhombifolia* foi envolto por maltodextrina, configurando o processo de encapsulação.

Figura 47 – Micrografia da MD (a) e dos materiais encapsulados em *Spray-dryer*, MSD (b), ME 2,5 (c) e ME 5,0 (d)



Fonte: O autor

Segundo Zhang e colaboradores (2018), concentrações de maltodextrina entre 12 e 24 %, favorecem a formação de partículas mais esféricas e dispersas, quando comparado à concentrações mais elevadas do mesmo agente encapsulante. Além disso, relata que partículas com superfície mais lisa são consideradas as mais adequadas para aplicações na indústria. Dessa forma, ME 5,0 destaca-se por conferir as características mais próximas do relatado para processos industriais.

A análise dimensional do material encapsulado apresentou larga polidispersividade, conforme apresentado pela (Apêndice C), com valores de partículas que variaram de 0,81 a 7,84 μm , sendo 3,07 μm de média, demonstrando que o processamento em *spray-dry* permitiu a obtenção de partículas que caracterizam a produção de extrato microencapsulado (AGUIAR; ESTEVINHO; SANTOS, 2016; BARROS; STRINGHETA, 2006). As vantagens atribuídas à obtenção de microencapsulados contendo bioativos, principalmente nas obtidas mediante polissacarídeos como agentes encapsulantes, está na capacidade de reidratação, bem como na

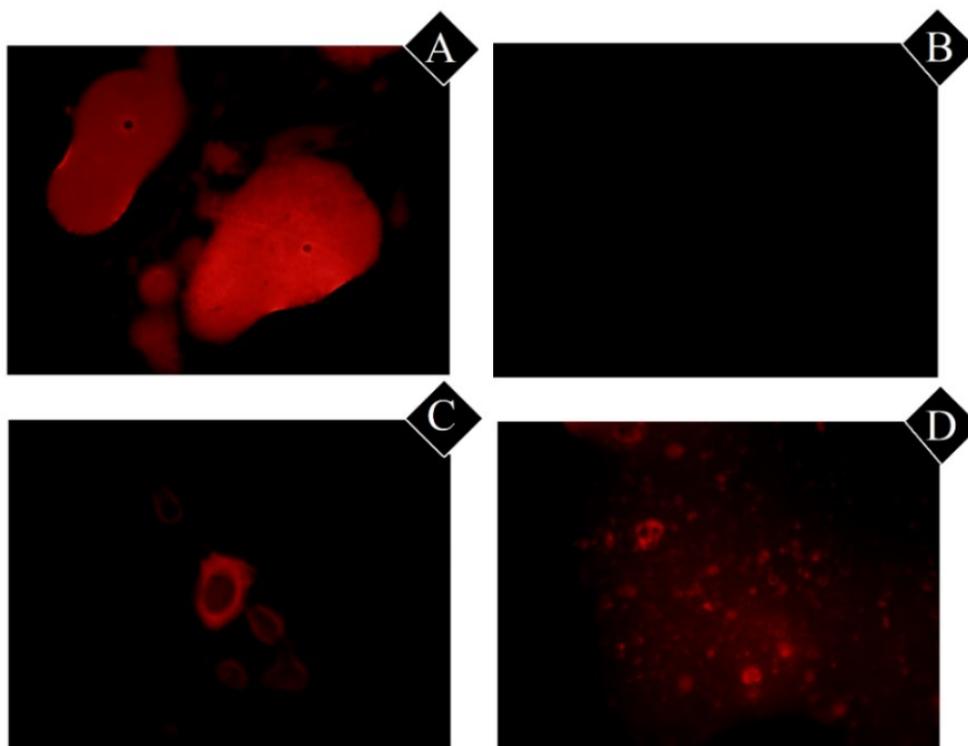
influência quanto às características sensoriais e tecnológicas para produtos alimentícios (GOYAL et al., 2015; ROCHA et al., 2019).

4.1.3 Microscopia de Fluorescência

As microcápsulas com e sem extrato de *S. rhombifolia*, foram submetidos a análise de microscopia de fluorescência. Esta técnica permite identificar emissão de fluorescência em tecidos foliares, materiais autofluorescentes ou incorporados de reagentes com esta propriedade, em diferentes comprimentos de onda dependendo do seu conteúdo fenólico (PAWLIKOWSKA-PAWLEGA et al., 2007).

As imagens obtidas por MEV no item 4.1.2, mostram claramente a morfologia das microcápsulas obtidas por *spray-drying*, bem como a presença de material interno às partículas fragmentadas, portanto constituindo núcleo e parede de agente encapsulante. A microscopia de fluorescência foi empregada neste estudo de modo a auxiliar na confirmação de microencapsulação de bioativos de conteúdo fenólico. A Figura 48, apresenta as imagens obtidas para o extrato puro (A), MSD (B), ME 2,5 (C) e ME 5,0 (D).

Figura 48 – Micrografias de Fluorescência do extrato de *S. rhombifolia* (A) e das microcápsulas MSD (B), ME 2,5 (C) e ME 5,0 (D)



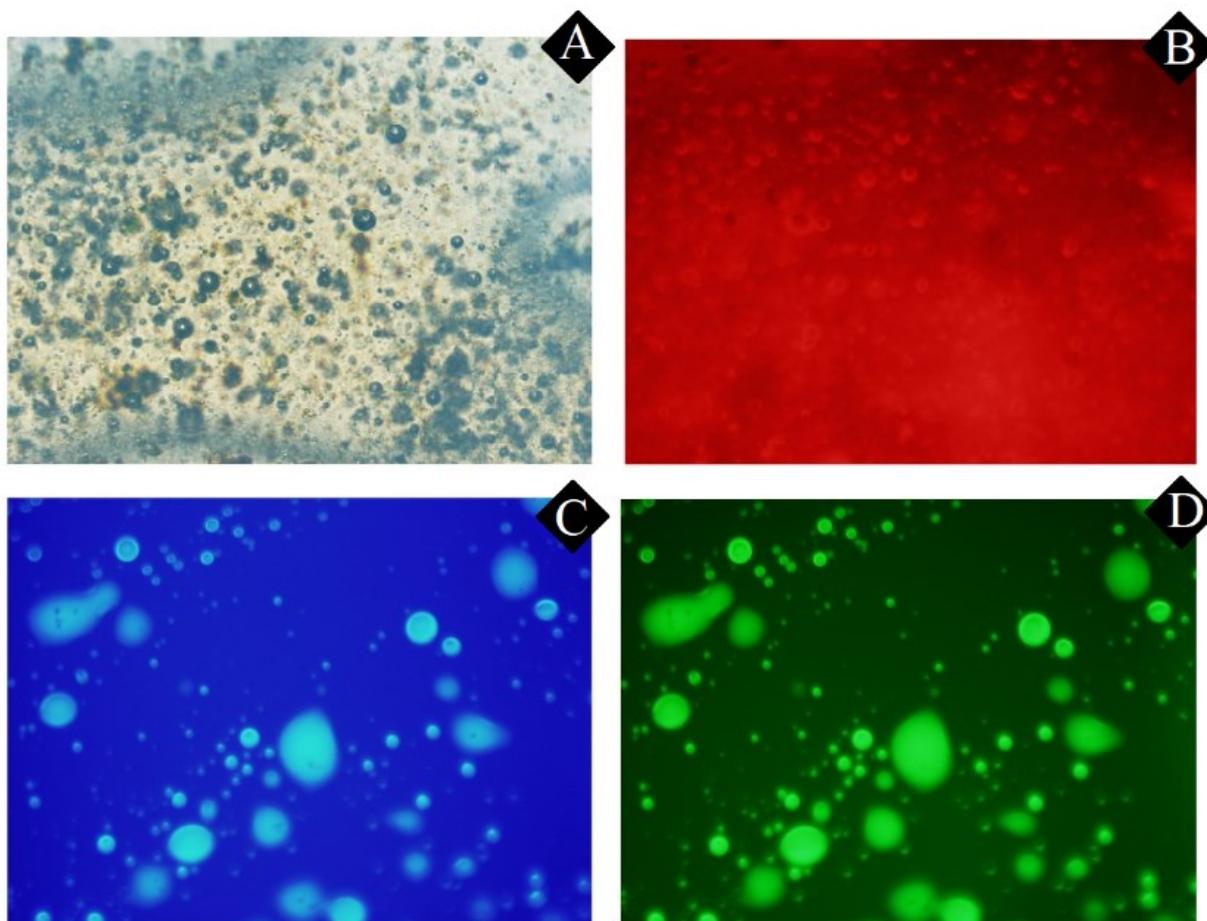
As micrografias relevam a capacidade de autofluorescência atribuída aos compostos fenólicos, conforme demonstra a Figura 48A, referente ao extrato puro de *S. rhombifolia*. A fluorescência laranja-avermelhada (597–750 nm) é onipresente da maioria das espécies de plantas (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 2015), característico de compostos flavonoides e clorofilas. Esse comportamento é evidenciado pelo condicionamento dos sinais fluorescentes emitidos pelo material analisado, podendo ser usado no monitoramento de produtos processados, com indicativo resultante de sua emissão de fluorescência atribuído aos compostos fenólicos que o compõem (PANNETON; CLÉMENT; LAGACÉ, 2013).

A análise de autofluorescência em comprimentos de onda UV acima de 350 nm de excitação visível é adequada para a visualização de compostos fenólicos, como a lignina ou os ácidos hidroxicinâmicos. A emissão de fluorescência nos diferentes comprimentos de onda, reportam composições distintas de fenólicos, no entanto não permitem a visualização de proteínas ou polissacarídeos (CORCEL et al., 2016), corroborando com as microscopias apresentadas na Figura 48, onde a destacam-se as emissões de compostos fenólicos excitados pelo UV e o material encapsulante não é visível, comportamento apresentado para a amostra MSD na Figura 48B. Dessa forma, nas demais imagens, a presença de fluorescência aparente é atribuída às partículas fragmentadas, conforme visto na análise MEV do item 4.1.2 deste capítulo.

A excitação e emissão de fluorescência em diferentes comprimentos de onda, correspondendo à distintos compostos, conforme relatado por Garcia-Plazaola e colaboradores (2015), pode fornecer valiosas informações do material vegetal analisado. Nesse sentido, é possível considerar o mapeamento de compostos fenólicos por meio de suas características de autofluorescência, que representa ser uma boa alternativa nessa investigação, por ser um método não invasivo, sensível, rápidas e nenhuma preparação específica ser necessária (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 2015; VIDOT et al., 2019).

Observações de autofluorescência para as microcápsulas com maior percentual de extrato incorporado (ME 5,0) foram realizadas, com intuito de ampliar o espectro analítico de excitação. As variações de emissão de UV foram aplicadas para distinguir melhor as diferenças na fluorescência da amostra num mesmo ponto, fazendo uso de filtros de passagem de banda para obtenção das imagens, conforme apresentado na Figura 49.

Figura 49 – Micrografias de fluorescência de ME 5,0 em diferentes comprimentos de onda, plano claro (A), 700-620 nm (B), 560-500 nm (C) e 480-400 nm (D)



Fonte: O autor

Todas as análises realizadas apresentaram cargas similares e referem-se ao ponto focado, sendo a Figura 49A referente à imagem em plano claro e Figura 49B, Figura 49C e Figura 49D, micrografias obtidas com emissão de UV para compreender o espectro visível. Foi analisada através da emissão de autofluorescência uma região da lamínula onde havia alta concentração de microcápsulas. É possível observar manchas vermelhas dispersas em meio também vermelho, que pode estar associado à presença de resíduos de clorofila (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 2015; HUTZLER et al., 1998) no material bioativo externo às partículas formadas em *spray-dry*. A análise de fluorescência (Figura 49D) específica esverdeada (492-535 nm) apresentou resultados visíveis, os quais podem estar relacionados à presença de riboflavinas (MASLANKA; KWOLEK-MIREK; ZADRAG-TECZA, 2018). Assim como pequenas variações nessa faixa de espectro corresponde à compostos de várias grupos fenólicos (taninos, cumarinas, flavonóides, alcaloides, carotenoides e também clorofila, os quais produzem

fluorescência na região verde-amarela (492-597 nm) (GARCÍA-PLAZAOLA et al., 2015; VIDOT et al., 2019).

A Figura 49C, emissão para a faixa azul (400-460 nm) revela a presença de compostos autofluorescentes, sendo reportados na literatura, dentre outros, ácidos ferúlico e cumárico (HARRIS; HARTLEY, 1976). Esse comportamento corrobora com os resultados da identificação em HPLC no item 4.5 do Capítulo III deste estudo, onde estes compostos foram identificados. A caracterização química do extrato de *S. rhombifolia* permitiu também a identificação da isoquercetina, sendo este o composto de concentração mais expressiva dentre os demais estudados. Segundo Vidot e colaboradores (2019), a isoquercetina apresenta máxima excitação fluorescente para comprimentos de onda entre 260 e 410 nm, ou seja, na faixa visível azul. Portanto, os espectros de fluorescência registrados a partir das microcápsulas podem representar ser uma técnica indicativa da presença de compostos padrões e/ou complementar na sua caracterização.

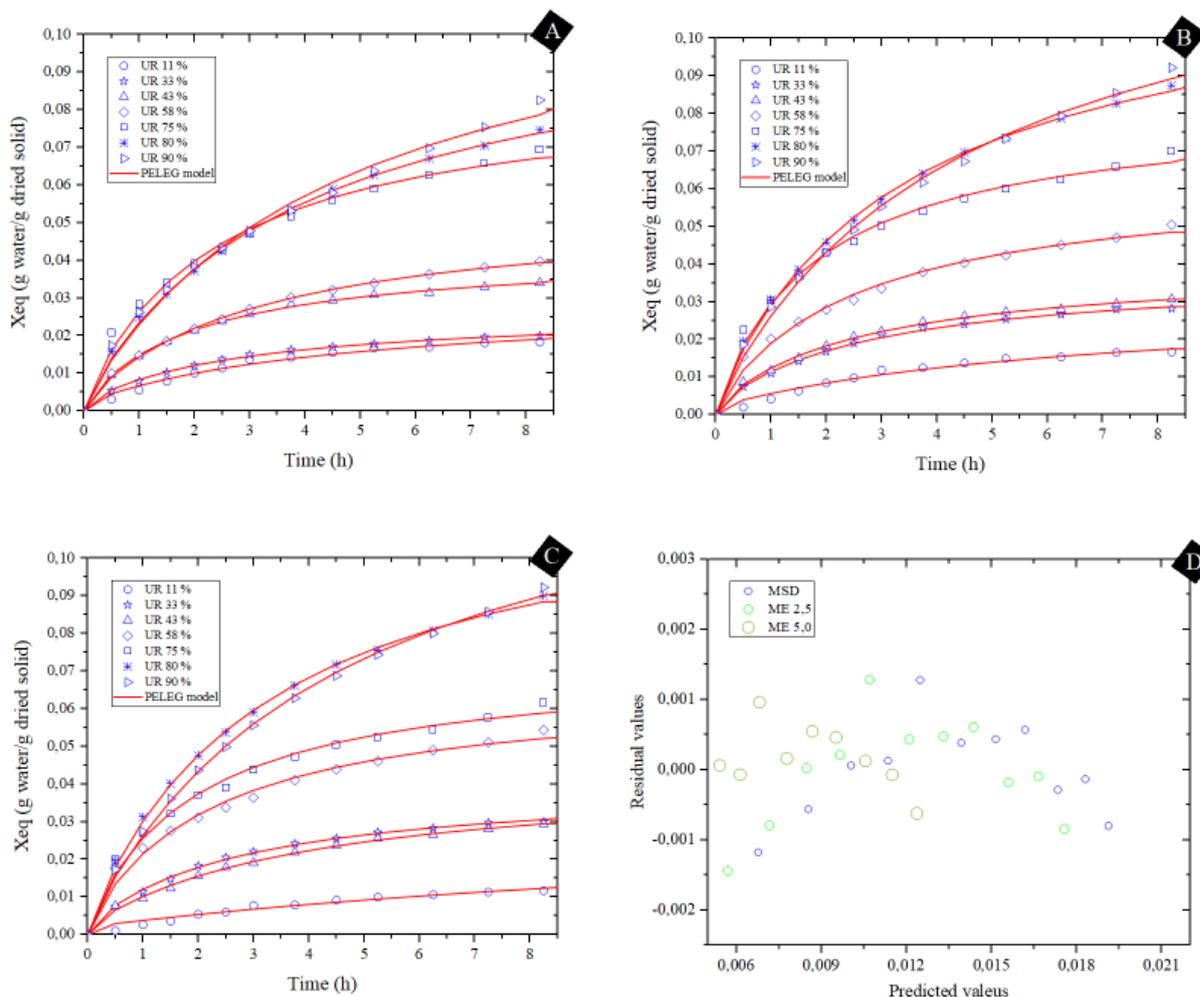
4.1.4 Cinéticas de Adsorção de Umidade

As cinéticas de adsorção permitem estimar o ganho de umidade de forma a prever o comportamento do alimento quando acondicionado em um ambiente com uma determinada umidade relativa (UR). A adsorção de umidade ocorre inicialmente de forma rápida, caracterizada por uma taxa que varia linearmente com o tempo, diminuindo até o sistema entrar em equilíbrio (BARBOSA-CANOVAS; VEGA-MERCADO, 2000).

A partir do ensaio cinético foi possível observar que o fenômeno de equilíbrio de umidade ocorreu com 8,25 h, quando as microcápsulas apresentaram alteração significativa de massa. Esta condição difere ligeiramente entre as diferentes condições de umidades relativas testadas, no entanto, de modo geral a adsorção de umidade pode ser compreendida como um fenômeno espontâneo, típico de materiais amorfos e de alta higroscopicidade, atribuída à MD.

Nas curvas cinéticas de ganho de umidade em função do tempo, diferentes etapas podem ser observadas, conforme apresentado na Figura 50.

Figura 50 - Curvas cinéticas de adsorção de umidade de MSD (A), ME2,5 (B) e ME5,0 (C) e distribuição de resíduos para UR 11 % (D)



Fonte: O autor

As curvas cinéticas demonstram alta taxa de adsorção de umidade das microcápsulas. Com a redução desta taxa, uma fase intermediária representa o tempo em que o material chega próximo a sua umidade de equilíbrio, caracterizando a fase permanente, quando a adsorção de água é relacionada a umidade de equilíbrio do material, onde pode ocorrer a perda e ganho de água, à medida que o produto está perto de atingir a umidade de equilíbrio (MARQUES; JORGE; JORGE, 2014).

Conforme demonstram as Figura 50A, Figura 50B e Figura 50C, a avaliação em sistemas com UR crescente entre 11 e 90 %, a uma temperatura fixa de 25 °C, apresenta um aumento na capacidade de adsorção das micropartículas, associada ao aumento da pressão de vapor do sistema até atingir a saturação (SILVA et al., 2015). O modelo de Peleg foi utilizado para descrever esse comportamento cinético. O grau de ajuste do modelo foi baseado no coeficiente

de correlação por erro quadrático (R^2) e na análise dos resíduos (Figura 50D). Um bom ajuste do modelo é observado pela distribuição aleatória dos resíduos em torno do zero, para a UR mais sensível do estudo, bem como, os valores de R^2 acima de 99 % para a maioria dos dados (CUNNINGHAM et al., 2007), conforme apresentado na Tabela 20, juntamente com os valores dos coeficientes K_1 e K_2 .

Tabela 20 – Coeficientes de ajuste e parâmetros estimados pelo modelo de Peleg

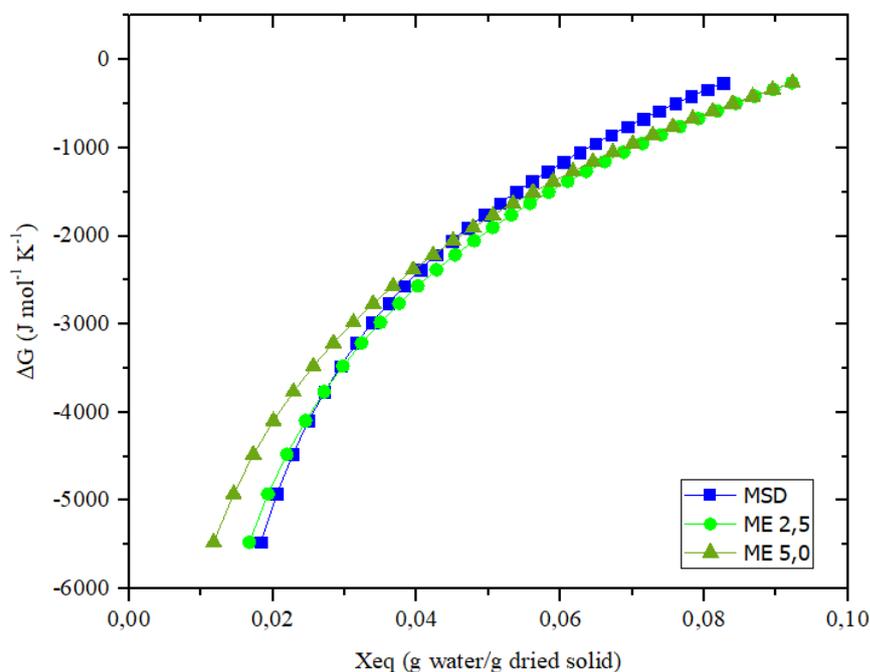
Amostras		UR (%)						
		0,11	0,33	0,43	0,58	0,75	0,80	0,90
MSD	kk_1^*	177,449	117,690	52,869	61,703	29,336	37,273	39,390
	kk_2^{**}	37,256	40,794	24,870	19,304	11,783	9,402	8,280
	RR^2	0,980	0,997	0,998	0,999	0,989	0,999	0,989
ME 2,5	kk_1^*	243,558	78,211	70,200	42,594	23,844	28,390	33,948
	kk_2^{**}	35,153	28,029	26,445	16,365	12,493	8,471	7,350
	RR^2	0,973	0,997	0,996	0,987	0,989	0,998	0,995
ME 5,0	kk_1^*	541,412	73,940	98,980	35,840	28,169	27,268	33,869
	kk_2^{**}	31,834	26,111	24,509	15,626	14,186	8,270	7,253
	RR^2	0,961	0,997	0,996	0,982	0,985	0,999	0,998

*Constante de Peleg $k_1 = (h \cdot g_{ss} \cdot g_a^{-1})$; **Constante de Peleg $k_2 = (g_{ss} \cdot g_a^{-1})$

O parâmetro k_1 do modelo de Peleg está relacionada com a taxa de transferência de massa, sendo que, quanto menor o k_1 maior a taxa inicial de adsorção de água. Já k_2 está relacionado com a capacidade máxima de adsorção de água e quanto menor seu valor, maior a capacidade de adsorção. O comportamento observado em ambos coeficientes (k_1 e k_2) obtidos na modelagem de Peleg, descresem com o aumento da UR ambiente, corroborando com o reportado por Cunningham et al (2007), indicando uma maior taxa inicial e a capacidade de adsorção de água.

Fenômenos de adsorção conforme apresentado neste estudo podem estar ligados aos efeitos físicos, atribuídos as forças de Van Der Waals ou forças eletrostáticas, que ocorrem entre as moléculas de água e os átomos que compõem a superfície das microcápsulas, demonstrando que as microcápsulas estudadas correspondem à um processo espontâneo, de modo a contribuir para o aumento da taxa de adsorção na fase inicial das curvas cinéticas. Esse efeito pode ser melhor compreendido com a análise na alteração de energia livre de Gibbs, conforme Figura 51.

Figura 51 – Alterações na energia livre de Gibbs em função do teor de umidade das microcápsulas



Fonte: O autor

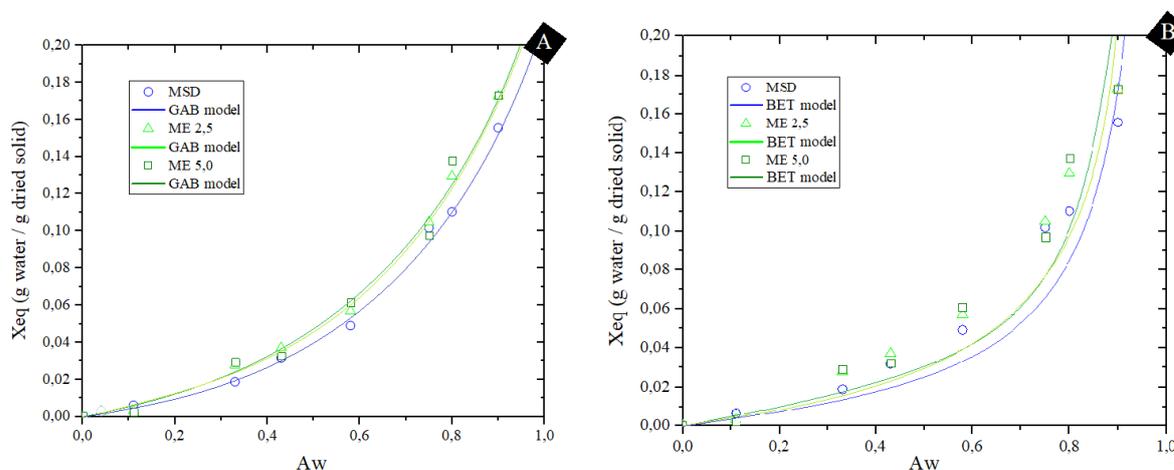
Na adsorção há uma diminuição da energia (ΔL) superficial do sistema, onde a variação da energia de Gibbs (ΔG) é menor que zero, conforme observado na Figura 51. Os valores de ΔG aumentam continuamente com o aumento X_{eq} e tendem para valores constantes próximo de zero. Para todo intervalo analisado ΔG foi negativo, indicando que o fenômeno de adsorção é um processo espontâneo (SILVA et al., 2014). Do mesmo modo, o número de graus de liberdade do sistema diminui, pois, as moléculas de água só podem se deslocar sobre a superfície das microcápsulas, ou seja, a variação de entropia (ΔS) é menor que zero. Portanto, a variação de entalpia (ΔH) será negativa, mostrando que a adsorção é um processo exotérmico.

Quanto mais negativos os valores de ΔL , mais espontânea e energeticamente favorável é o processo de adsorção (BHATTACHARYA et al., 2007). Curvas cinéticas similares são reportadas aos estudos com morango em pó, leite em pó integral, aroma de queijo microencapsulado com maltodextrina e micropartículas de óleo essencial de alecrim encapsuladas com goma arábica por *spray-dry* (SILVA et al., 2014, 2015; SZULC; LENART, 2012).

4.1.5 Isotermas de Adsorção de Umidade

As isotermas de adsorção são empregadas nas avaliações de materiais higroscópicos, permitindo correlacionar umidade relativa do ambiente ou atividade de água com a umidade de equilíbrio no material, numa dada temperatura. A Figura 52 apresenta as isotermas de adsorção de umidade obtidas a 25 °C para as microcápsulas de maltodextrina com e sem adição de extrato de *S. rhombifolia* e os respectivos ajustes dos modelos de GAB e BET.

Figura 52 – Isotermas de adsorção de umidade: (A) ajuste matemático do modelo de GAB; (B) ajuste matemático do modelo de BET



Fonte: O autor

Para os três materiais estudados foi observado um aumento da umidade de equilíbrio com aumento da atividade de água. Esse fato pode ser devido ao gradiente de umidade relativa entre o material encapsulado e o ambiente, ocorrendo a adsorção de umidade. Como já relatado na literatura, esse comportamento é associado à higroscopicidade de materiais como amido, alginato, açúcares, etc. (AGUIRRE-LOREDO et al., 2016; BIERHALZ et al., 2014; MOREIRA et al., 2016).

Dependendo da porosidade e das características do material as isotermas podem apresentar diferentes geometrias. As microcápsulas avaliadas neste estudo mostraram uma forma Tipo III, segundo classificação da *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) (SING et al., 1985), característica de materiais não porosos, e com comportamento típico da adsorção de vapores, tais como vapor de água. Com relação aos ajustes da modelagem, BET apresentou valores de R^2 próximos de 90 %, já o modelo de GAB teve um ajuste bom aos dados

experimentais, com todos valores de R^2 superiores a 99 % e distribuição aleatória de resíduos em torno do zero (Apêndice D), conforme apresentado na Tabela 21.

Tabela 21 – Parâmetros de ajuste dos modelos de GAB e BET para as microcápsulas com e sem extrato de *S. rhombifolia*

Amostras	Modelo de GAB				Modelo de BET		
	C	K	X_m ($g_{H_2O} \cdot g_{ss}$)	R^2	C	X_m ($g_{H_2O} \cdot g_{ss}$)	R^2
MSD	0,174	0,617	0,391	0,999	0,080	0,464	0,901
ME 2,5	0,234	0,619	0,339	0,999	0,080	0,522	0,910
ME 5,0	0,175	0,611	0,449	0,999	0,080	0,523	0,899

Valores de A_w de 0,11 a 0,9; onde X_m ($g_{H_2O} \cdot g_{ss}$), C e k correspondem aos coeficientes de ajuste dos modelos de GAB e BET.

O parâmetro C do modelo de GAB apresenta uma ampla faixa de variação, isto pode estar relacionado ao fato de que as fortes interações moléculas de água e partículas de maltodextrina, que são exotérmicas, produzem redução de temperatura e aumento no parâmetro C (DIOSADY et al., 1996). Segundo Farahnaky e colaboradores (2016), em estudo isotérmico com influência da temperatura, no ajuste do modelo de GAB obtiveram valor de C igual a 1,47, para uma concentração de 30 % de maltodextrina e ensaio à 25 °C. Já os dados relatados por Valenzuela e Aguilera (2015), corroboram com os apresentados neste estudo, sendo os mesmos avaliaram maltodextrina em diferentes percentuais e o ensaio à 15 % de maltodextrina apresentou valor de 0,21 ao parâmetro C.

Além disso o parâmetro C pode ser utilizado como indicativo da classificação das isotermas de adsorção, conforme já relatado na literatura (BLAHOVEC, 2004; BLAHOVEC; YANNIOTIS, 2008; GARCÍA-TEJEDA; BARRERA-FIGUEROA, 2019; PRASANTHA; AMUNOGODA, 2013). Uma isoterma de adsorção pode apresentar um ponto de inflexão na curva, correspondendo a uma isoterma do tipo II quando o valor de $C > 2$. Já quando $C < 2$, o ponto de inflexão se move para o espaço fictício de valores negativos de A_w (PRASANTHA; AMUNOGODA, 2013), o que remete a uma isoterma do tipo III da classificação IUPAC (SING et al., 1985).

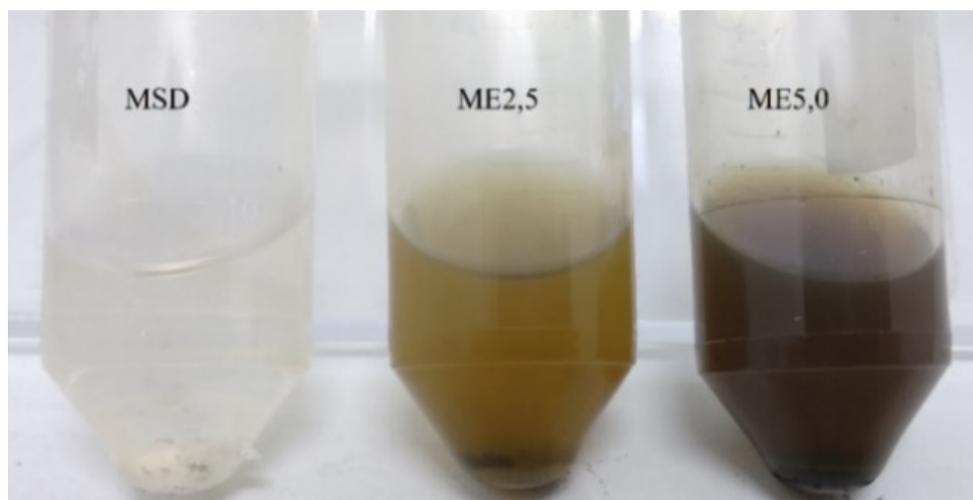
O parâmetro K do modelo GAB determina a taxa de crescimento da curva isotérmica para os valores mais altos de A_w . Para que o erro P seja menor que 15,5%, o valor de K deve estar no intervalo permitido de $0,24 \leq K \leq 1,00$. Os valores de $K > 1$ não são permitidos (LEWICKI,

1997). Se K está no intervalo permitido, observa-se que os valores mais baixos de K dão os maiores valores de A_w em que os pontos de inflexão ocorrem (GARCÍA-TEJEDA; BARRERA-FIGUEROA, 2019).

4.1.6 Capacidade Retenção de Água (CRA) e Capacidade de Retenção de Óleo (CRO)

As análises de CRA e CRO são as medidas das capacidades que um material tem de reter água ou óleo, respectivamente, quando submetido a uma força de gravidade centrífuga externa ou de compressão. Para CRA, corresponde à soma da água ligada, água hidrodinâmica e água presa fisicamente, a última das quais contribui mais para essa capacidade. No entanto, conforme apresentado pela Figura 53, não é possível mensurar a CRA das microcápsulas obtidas neste estudo.

Figura 53 – Frascos utilizados na avaliação CRA apresentando solubilização das amostras



Fonte: O autor

O ensaio de CRA apresentou total solubilização do material microencapsulado, sem a presença de fases distintas para a quantificação. A capacidade de retenção de água é indicativa das propriedades da estrutura em absorver espontaneamente a água quando colocada em contato com uma superfície constantemente úmida ou quando imersa na água. É inicialmente um fenômeno de superfície, mas em níveis de hidratação mais altos, a absorção pode ocorrer dentro da estrutura, levando ao inchaço e eventual solubilização (ALFREDO et al., 2009). Esse comportamento pode estar relacionado com o valor de dextrose equivalente (DE), uma vez que o aumento deste parâmetro aumenta a solubilidade e higroscopicidade do material devido ao

aumento de grupos hidroxilas capazes de fazer ligações de hidrogênio (ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; OWEN, 2006).

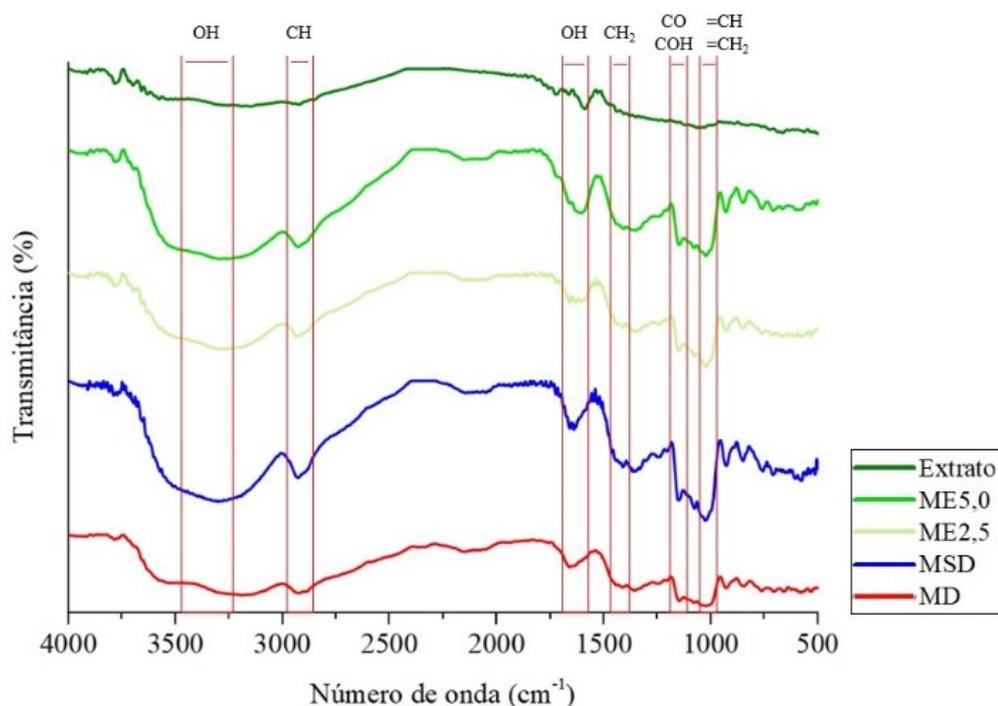
Os valores DE resultam em maltodextrinas com diferentes propriedades físico-químicas. DE é uma medida que caracteriza a extensão da hidrólise do amido e também indica uma média do peso molecular. A propriedade de solubilidade por sua vez é afetada pelo peso molecular, quanto menor é o peso molecular da maltodextrina, maior será a solubilidade da mesma (FAZAELI et al., 2012). Além disso, o fato de que as partículas microencapsuladas apresentam baixo teor de umidade pode ocasionar uma reidratação rápida (GOULA; ADAMOPOULOS, 2008), pois quanto menor o teor de umidade e menor for a partícula, maior a área superficial em contato com a água de reidratação.

Nos ensaios para determinação da CRO, em contraste a CRA, as amostras não foram solubilizadas, permitindo visualizar que as maiores capacidades de reter óleo, $0,88 \pm 0,01$ e $0,82 \pm 0,02$ g de óleo / g de amostra são atribuídas aos tratamentos ME 2,5 e ME 5,0, respectivamente. MSD apresentou a menor ($p > 0,05$) capacidade de reter óleo $0,71 \pm 0,03$ g de óleo/g de amostra. Esses resultados corroboram com os dados relatados por Ramakrishman (2018), os quais obtiveram $0,82 \pm 0,01$ g de óleo / g de amostra, estudando a encapsulação de extratos de tamarillo com maltodextrina através do processo de pulverização. Esse fato está associado às características do material de revestimento, que por apresentar baixa massa molar, tem reduzida capacidade de reter óleos (GHARSALLAOUI et al., 2007; UMESHA; MONAHAR; NAIDU, 2013), menor que outros materiais de revestimentos com maiores massas molares (RAMAKRISHNAN et al., 2018).

4.1.7 Grupos funcionais por infravermelho (FTIR)

O processo de secagem por pulverização (*spray-dry*), conformador de microcápsulas com a concentração fixa do agente encapsulante, apresentaram nas análises FTIR os picos característicos nas mesmas frequências, entre os diferentes tratamentos. O espectro na região de infravermelho para os materiais e microcápsulas, no intervalo de $4000-500 \text{ cm}^{-1}$, é apresentado na Figura 54.

Figura 54 - Espectros de infravermelho para os materiais e microcápsulas



Fonte: O autor

A maltodextrina utilizada como controle (MSD) demonstra picos bem definidos e característicos, nos comprimentos de onda contidos nas frequências de 3700-2800 cm^{-1} , os quais estão relacionados principalmente as vibrações de OH, CH e à água residual. A formação de microcápsulas pode ser atribuída pela presença de vibrações características do agente de encapsulação, nos tratamentos com incorporação de extrato.

Picos característicos da presença de maltodextrina nas amostras ME 2,5 e ME 5,0 em comparação ao controle MSD, pode ser melhor compreendido pelos comprimentos de onda da MSD, estando entre 1200-900 e 1600-1500 cm^{-1} , nas frequências de 1658 cm^{-1} (H_2O absorvida na região amorfa), 1446 cm^{-1} (flexão CH_2), 1149 cm^{-1} (flexão C O H, estiramento C O), 1024 cm^{-1} (deformação angular das ligações CH e CH_2), 848 cm^{-1} (deformação de $\text{C}_1\text{-H}$ e CH_2) e 711 cm^{-1} (situação estrutural do anel de piranose) (AKBARBAGLU et al., 2019; LÓPEZ-CÓRDOBA et al., 2015).

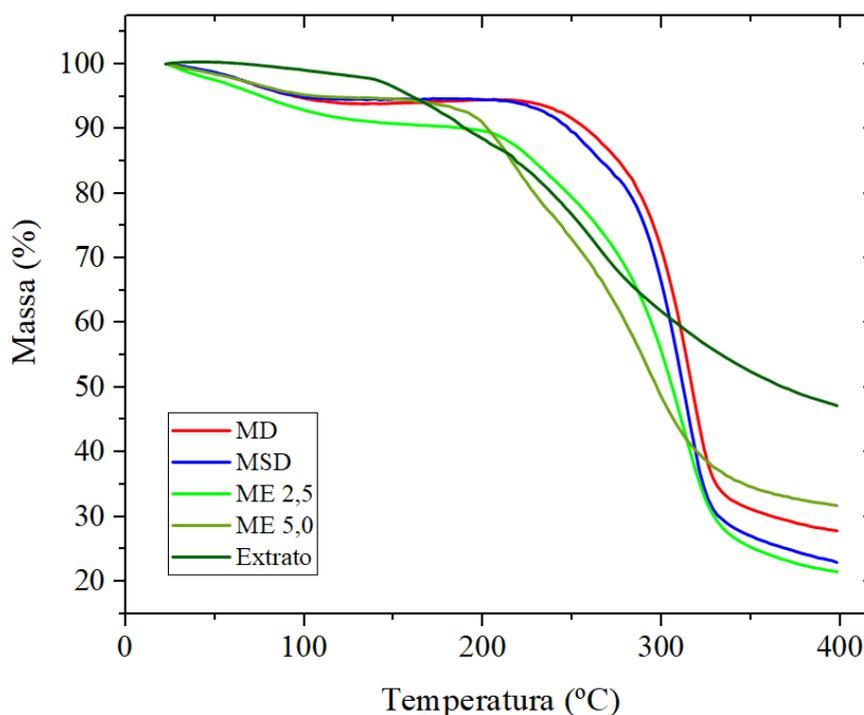
Para a região dos picos em 1658 e 1571 cm^{-1} entre os materiais MSD e ME 5,0 são observadas poucas alterações após o processo de microencapsulação. Conforme relato de Sarabandi e colaboradores (2018), a causa deste resultado pode ser a falta de uma reação química entre o núcleo das microcápsulas e o agente encapsulante durante todo o processo de microencapsulação. Além disso, o mesmo fato pode corresponder a manutenção das intensidades dos picos das hidroxilas nos materiais microencapsulados.

4.1.8 Análises térmicas

A análise TG apresenta o comportamento das amostras quanto a perda de massa pela decomposição dos materiais, ocorrendo em duas faixas distintas de temperatura, conforme Figura 55, corroborando com os estudos de Paini e colaboradores (2015b) e Saavedra-Leos e colaboradores (2015). MD e MSD possuem ligeira diferença entre si, gerando uma perda de massa total de 57,9 %. O mesmo comportamento é apresentado para ME 2,5 e ME 5,0, sendo observadas perdas de massas de 64,6 e 53,4 %, respectivamente.

A decomposição das amostras foi avaliada na faixa de temperatura de 30 a 400 °C. Observa-se que as amostras MD, MSD, ME 2,5 e ME 5,0 apresentaram pronunciadas perdas de massa em duas etapas, primeiro na faixa de 30-120 °C, podendo ser atribuído a perda de água, e o segundo estágio entre 200 e 350 °C, indicando decomposição das microcápsulas. Esses resultados estão de acordo com o estudo de Ding e colaboradores (2019), os quais avaliaram a encapsulação de materiais oleosos em maltodextrina por meio da técnica de *spray-dry*. Zhang e colaboradores (2015c) também reportam o comportamento de dupla decomposição, quando estudaram a encapsulação de óleo de peixe em produtos da reação de Maillard de proteína de soja hidrolisada isolada e maltodextrina.

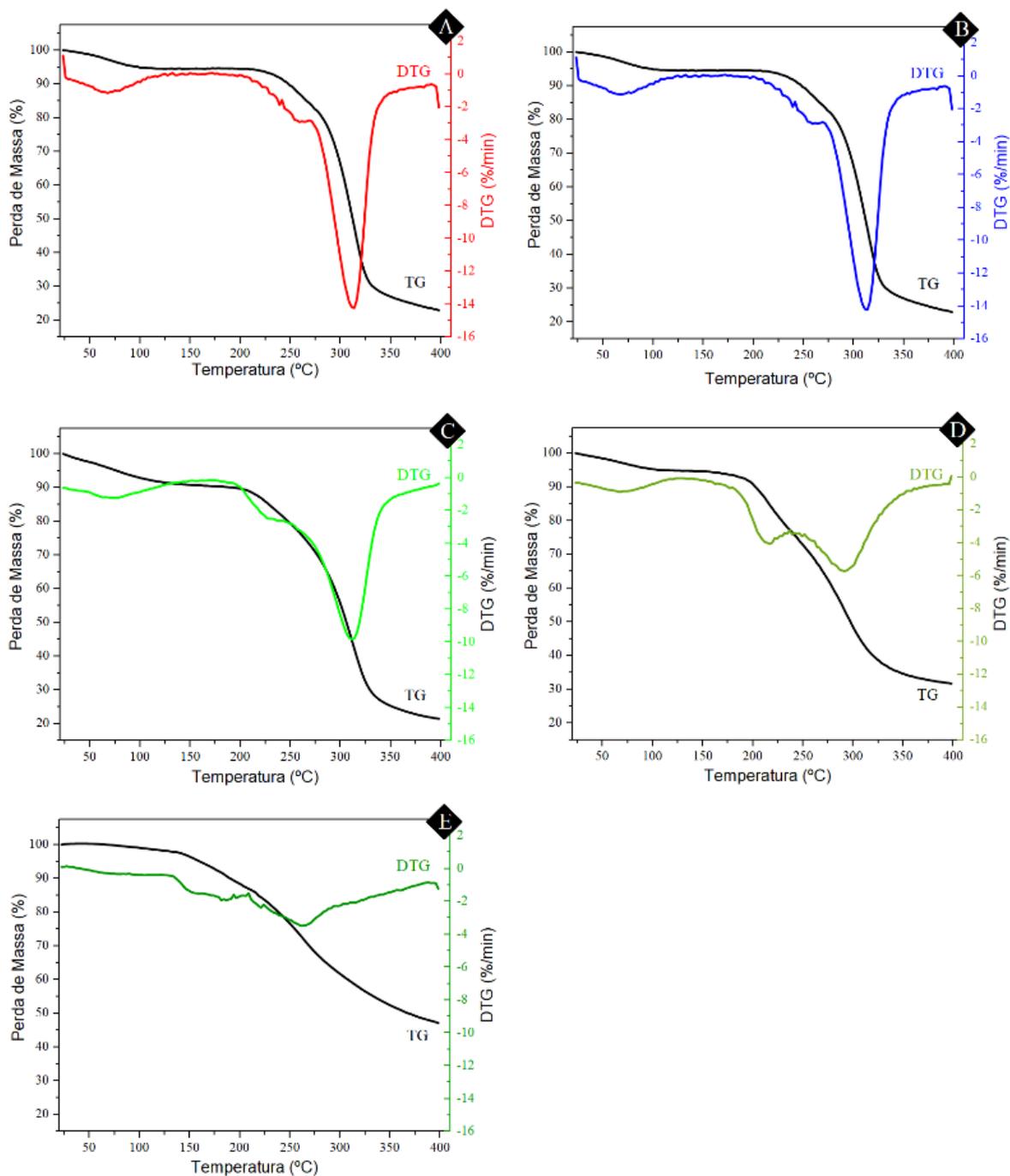
Figura 55 – Curvas TG do extrato de *S. rhombifolia*, MD, MSD, ME 2,5 e ME 5,0



Fonte: O autor

A termogravimetria realizada concomitantemente ao DSC, revela que a formação de microcápsulas com 5,0 % de extrato incorporado, possui estabilidade térmica superior ao ensaio ME 2,5 e ao controle MSD. Esse resultado é melhor visualizado mediante análise das curvas DTG, conforme apresentado na Figura 56.

Figura 56 - Curvas DTG para MD (A), MSD (B), ME2,5 (C), ME5,0 (D) e Extrato (E)



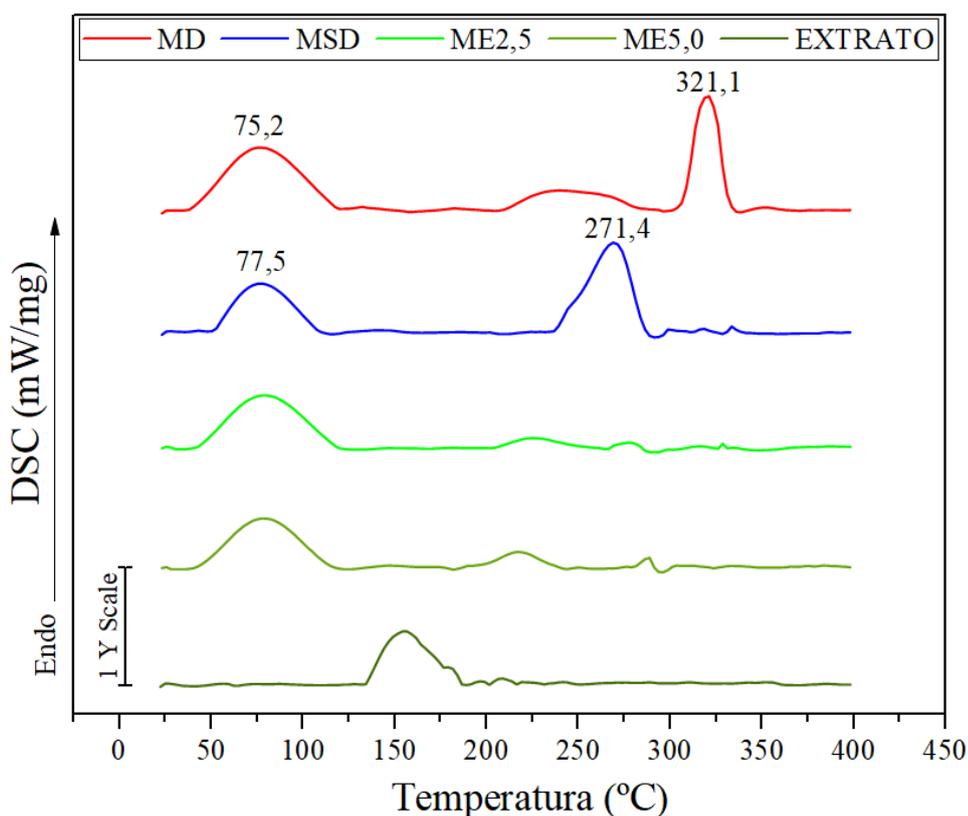
Fonte: O autor

Essa análise tem fundamental importância no âmbito de formação de redes poliméricas. A análise DTG resultante da primeira derivada TGA, pode indicar as taxas relativas ao processo de decomposição térmica do polímero. Essa taxa, pode ser obtida quando é alcançado o pico na curva DTG, onde é máxima a perda de massa e o pico em uma faixa de temperatura particular representa um evento separado (WU et al., 2018).

Como revelado na Figura 55, a degradação dos materiais estudados que possuem MD na composição, apresentam um comportamento similar, sendo que Figura 56 apresenta o perfil TG/DTG para os diferentes materiais empregados no processo de encapsulação. As Figuras 56A, Figura 56B, Figura 56C e Figura 56D apresentam comportamento similar, correspondente a MD que apresentou sinal típico de perda de massa correspondente à água fisicamente absorvida e que não havia conexão com a etapa de decomposição em temperaturas abaixo de 150 °C, corroborando com o relatado por WU e colaboradores (2018).

A análise de calorimetria exploratória diferencial fornece informações sobre a temperatura de transição da estrutura, ou seja, o ponto de fusão e a instabilidade de estruturas sólidas devido a um aumento na desordem molecular. Esse comportamento dos materiais utilizados para produção das microcápsulas podem ser observado nas curvas de DSC da Figura 57.

Figura 57 – Curvas de DSC normalizadas por meio da linha base



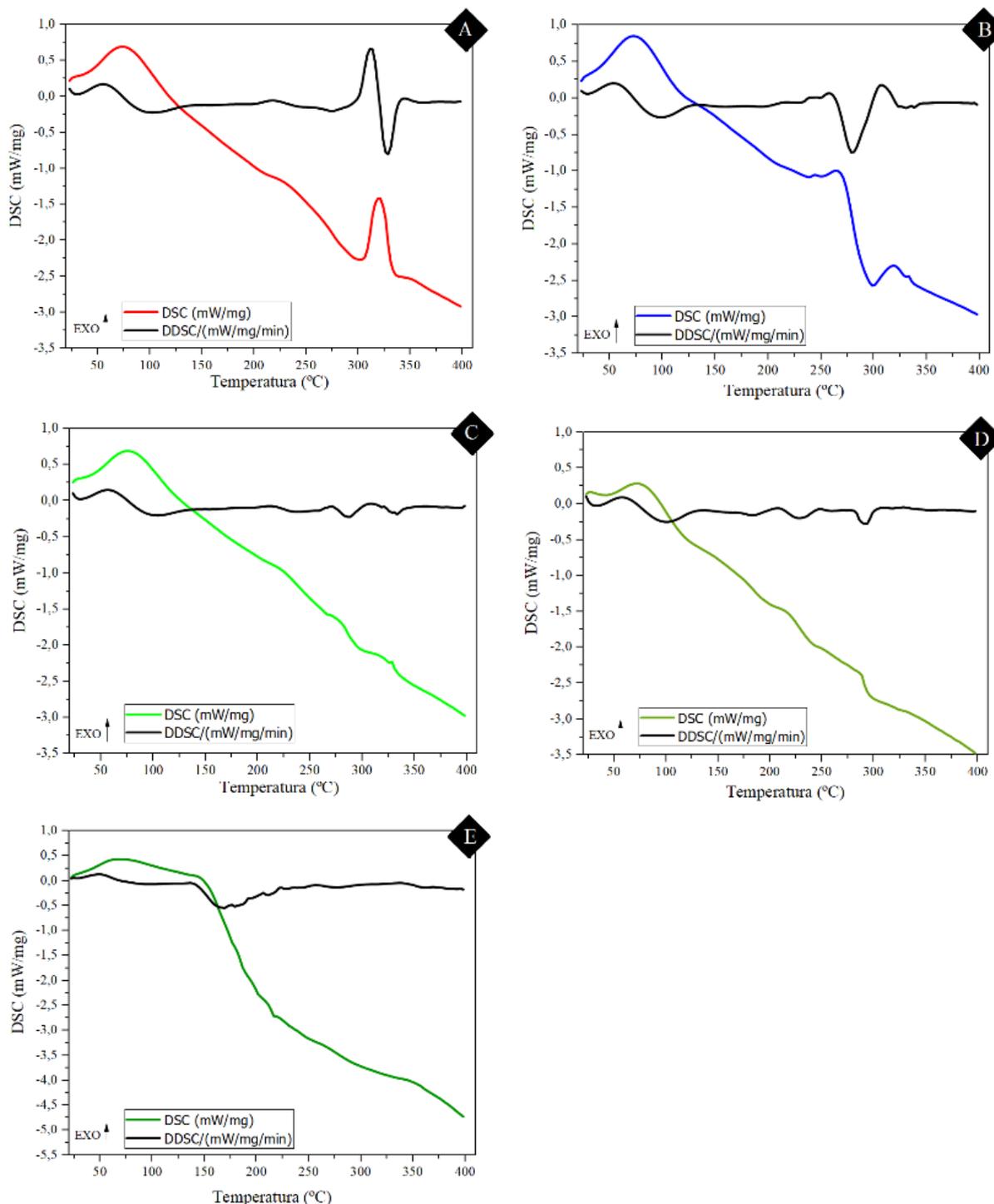
MD apresenta evento endotérmico ($T_{\text{pico}} = 321,1 \text{ } ^\circ\text{C}$) bem definido. O mesmo também é observado em MSD, no entanto com deslocamento do ponto de fusão ($T_{\text{pico}} = 271,4$), atribuído ao processo de *spray-dry*. Esse comportamento está em acordo com o relatado por Klein e colaboradores (2015), os quais avaliaram DSC de microcápsulas de maltodextrina contendo extrato de guaraná.

Para todos os materiais contendo MD em sua formulação, são observadas picos endotérmicos em regiões próximas à $75 \text{ } ^\circ\text{C}$, conforme observado na Figura 57. Esses eventos estão associados ao ponto da Tg da MD, influenciado pelo histórico da preparação deste material (temperatura e tempo) (FONGIN et al., 2019). Além disso, são reportadas às estas regiões de ocorrência dos picos endotérmicos, o início das redes ou reticulação das MDs. A reticulação em cadeias de MD é devida às pontes de hidrogênio, sendo tanto a entalpia como a entropia dessa rede formada, afetada pela temperatura de retenção. As maiores mudanças de entalpia, medidas em temperaturas de retenção mais baixas, indicam uma maior quantidade de ligações de hidrogênio, através da formação e agregação de hélices mais extensas (KANYUCK et al., 2019).

Os dados obtidos são consistentes com o já relatado em estudos anteriores, em que MD geralmente apresenta estruturas amorfas e o processo de secagem por *spray-dry* não influencia as características de cristalinidade do agente encapsulante (BOTREL et al., 2014; SILVA et al., 2013). A distinção nas curvas DSC é observada para microcápsulas formadas com e sem o conteúdo nuclear (extrato), sendo que microcápsulas com extrato não apresentam eventos térmicos Figura 58C e Figura 58D, à exceção da possível vaporização de água, aditivos ou decomposição.

Segundo Paramera, Konteles & Karathanos (2011), a ausência de eventos térmicos dos materiais de núcleo no perfil térmico de microcápsulas pode ser considerada como evidência de verdadeira formação de encapsulação do extrato. Dessa forma, os resultados obtidos confirmaram que o extrato de *S. rhombifolia* foi recoberto com sucesso por MD, além de corroborar com a característica de material amorfo. Não obstante, a inexistência de eventos térmicos, para secagem em *spray-dry* é suficientemente rápida para permitir a conversão da solução de maltodextrina DE-10 em um pó amorfo no estado vítreo no final do processo de secagem (DE MELO RAMOS et al., 2019).

Figura 58 - Curvas DDSC dos materiais MD (A), MSD (B), ME2,5 (C), ME5,0 (D) e Extrato (E)



Fonte: O autor

As propriedades físico-químicas e de estabilidade de armazenamento podem também ser atribuídas à cristalinidade e estado amorfo dos materiais de revestimento. De modo geral, materiais de revestimento amorfos, são mais solúveis e higroscópicos se comparado aos cristalinos (NAMBIAR; SELLAMUTHU; PERUMAL, 2017). Esta propriedade está

diretamente relacionada ao ganho de peso e colapso da microestrutura, podendo levar à degradação do material nuclear e a instabilidade microbiológica no período de armazenamento (BORRMANN et al., 2013).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A microencapsulação por atomização em *spray-dry* de compostos bioativos oriundos de *S. rhombifolia*, representa ser uma tecnologia viável para obtenção de um produto que integra a potencialidade de extratos obtidos por métodos de alta seletividade. O desempenho em termos de eficiência de processo e caracterização, mediante análise dos resultados obtidos neste estudo, demonstram que a elaboração e padronização das misturas resultaram em partículas de revestimento estruturado para manutenção da matriz nuclear, com potencial ação antioxidante.

Maltodextrina como agente encapsulante demonstrou eficiência em termos de rendimento, bem como capacidade de microencapsular extrato de *S. rhombifolia* em duas diferentes concentrações.

A análise colorimétrica aponta significativa diferença entre as amostras ME 2,5 e ME 5,0, isso demonstra que os diferentes materiais podem conferir alteração de cor significativa em alimentos que possam ter essas microcápsulas incorporadas em sua composição.

As partículas têm tamanho de dimensões micrométricas, apresentam formato esférico com superfície rugosa e foi observado material nuclear em cápsulas fragmentadas.

Os ensaios de microscopia de fluorescência corroboram com os resultados de MEV no que se refere à presença de material nuclear, uma vez que é possível identificar mediante a autofluorescência a presença de compostos fenólicos provenientes do extrato nas amostras ME 2,5 e ME 5,0. Além disso, a autofluorescência possibilitou a correlação com os resultados obtidos na caracterização química do extrato de *S. rhombifolia*, descrito no Capítulo III. Por meio da emissão fluorescente no comprimento de onda entre 260 e 410 nm, reportado na literatura ao quercetina 3-O- β -D-glicosídeo, também denominado como isoquercetina, composto de maior concentração no extrato estudado. Além disso, identificar fluorescência dos compostos fenólicos nas amostras ME 2,5 e ME 5,0, demonstra que mesmo após o estresse térmico em *spray-drying*, não houve degradação ou inatividade do bioativo nuclear.

As análises de capacidade de retenção de água e óleo evidenciam a alta solubilidade das microcápsulas em ambos sistemas indicando um espectro amplo de aplicações para estes materiais.

O estudo cinético de adsorção de umidade permite observar a higroscopicidade das amostras analisadas. O modelo de Peleg foi aplicado e apresentou bom ajuste aos dados cinéticos, analisando coeficiente de ajuste, resíduo e energia livre de Gibbs. As taxas de adsorção que aumentam em função da umidade relativa de condicionamento, demonstram ser um processo espontâneo. Dessa forma, em termos de aplicação industrial, para se ter

microcápsulas estáveis quanto a percentual de umidade, faz-se necessário a utilização de um sistema hermético e/ou atmosfera modificada.

Esses dados cinéticos serviram de base para a construção das curvas isotermas. Os modelos de GAB e BET foram aplicados, sendo observado o melhor ajuste ao modelo GAB, com $R^2 \geq 0,99$. O estudo das isotermas de adsorção demonstrou que ME 5,0 apresentou maiores valores para X_{eq} (g água/ g sólido seco) em todas as atividades de água analisadas. Este fato está relacionado à higroscopicidade do material microencapsulado. As isotermas apresentaram comportamento do Tipo III, segundo a classificação IUPAC, típico de materiais com alta capacidade de adsorção de vapores.

As microcápsulas apresentaram pronunciada perda de massa em duas etapas, primeiro na faixa de 30-120 °C, podendo ser atribuído a perda de água, e a segunda etapa entre 200 e 350 °C, indicando decomposição das microcápsulas. MSD apresenta evento endotérmico bem definido ($T_{pico} = 271,4$ °C) atribuído ao processo de *spray-dry*. Para ME 2,5 e ME 5,0 a ausência de eventos térmicos dos materiais de núcleo no perfil térmico de microcápsulas pode ser considerada como evidência de verdadeira formação cápsulas envolvendo o extrato. A análise por grupos funcionais (FTIR) apresentou vibrações em comprimentos de onda característicos ao agente encapsulante que se repetiram nas amostras ME 2,5 e ME 5,0. Esse comportamento pode ser atribuído à falta de interação entre o material do núcleo (extrato) e o agente encapsulante, durante a microencapsulação.

Diante do exposto, a conformação de microcápsulas contendo o extrato de *S. rhombifolia*, representa ser um promissor aditivo para a incorporação em alimentos. A rota proposta para obtenção deste produto visa o estreitamento entre pesquisa e produção industrial, tendo em vista as técnicas estudadas. Desse modo, a caracterização do material encapsulado, permite propor as microcápsulas possam ser incorporadas em produto de reidratação pré-consumo, conservando o máximo do potencial antioxidante e a presença de altos teores de compostos fenólicos até o momento de consumo.



CAPÍTULO VI

CONSIDERAÇÕES FINAIS

1 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados apresentados nos Capítulos III e IV desse trabalho demonstraram que *S. rhombifolia* pode ser utilizada como matéria-prima para a obtenção de extratos bioativos com atividade antioxidante. As diferentes técnicas de extração avaliadas permitiram visualizar como a metodologia de extração aplicada pode influenciar no rendimento de extração e nas atividades biológicas apresentadas pelos extratos.

Os melhores resultados de rendimento global de extração e composição no que diz respeito à compostos fenólicos e flavonoides, são atribuídos ao processo de extração com líquido pressurizado à 80 °C e mistura de etanol e água (70:30) como solvente. Por meio desse método foram obtidos extratos que correspondem à 12,34 % de rendimento. Em comparação com os melhores resultados de ESC, onde foram obtidos 1,61 % e 2,77 %, PLE representou maior capacidade de extração, mesmo quando a ESC foi realizada com uso de cossolvente.

A aplicação de uma abordagem através dos conceitos de biorrefinaria, com o intuito de otimizar e maximizar a utilização da matéria-prima foi eficiente na obtenção de diferentes frações de *S. rhombifolia*. Nesse processo, o estudo da alta taxa de despressurização em ESC demonstrou ser eficiente para obtenção de melhores resultados no PLE. Análises de MEV e composição demonstraram que a integração de processos pode ser utilizada de maneira eficiente na recuperação de compostos intrínsecos à matriz vegetal.

O estudo de composição química permitiu identificar 31 compostos fenólicos em *S. rhombifolia*, dos quais, até onde se sabe, 21 são reportados pela primeira vez para esta matéria-prima. Isoquercetina foi o principal fenólico encontrado nas amostras de *S. rhombifolia*, o qual se destaca como um importante flavonoide, com maior disponibilidade do que a quercetina e apresenta quimioprotetores que conferem atividades contra estresse oxidativo, distúrbios cardiovasculares, diabetes, reações alérgicas e câncer.

Em função do grande potencial atribuído aos extratos de *S. rhombifolia*, o estudo de ampliação de escala foi realizado, de modo a permitir recuperação de maiores quantidades de extrato. Para tanto, os dados experimentais foram modelados matematicamente e os parâmetros de similaridade para porosidade e geometria do leito de extração foram mantidos constantes. Verificou-se que o melhor ajuste se dá ao modelo de Sovová (1994), seguido de Martínez (2003) e Esquivel (1999). A validação se deu através da análise de erro quadrático das curvas de extração global, composição de fenólicos e flavonoides totais e atividade antioxidante, com resultados de igual ou superior magnitude no processo de escalonamento.

O método *spray-drying* demonstrou ser eficiente em rendimento para formação de microencapsulados utilizando maltodextrina à 20 % (m/m) como agente encapsulante do material de núcleo oriundo de método extrativo a alta pressão. As imagens de MEV indicaram formação de micropartículas e recobrimento do extrato rico em compostos fenólicos, corroborando com os resultados obtidos por meio de micrografias de fluorescência. A caracterização físico-química expõe resultados que seguem maior estabilidade ao ME 5,0 em comparação ao extrato livre.

A microencapsulação de extratos de *S. rhombifolia* representa a obtenção de um promissor aliado à indústria de alimentos. Um produto que pode ser utilizado como aditivo incorporado na formulação de alimentos funcionais, bem como compor um fármaco em virtude da presença dos compostos fenólicos e seu potencial antioxidante atribuídos ao seletivo processo de extração. Diante do exposto, denota-se a valorização do recurso natural, agregação de valor, aplicação de técnicas sob o conceito de tecnologias de baixo impacto ambiental e contribuição com a comunidade científica e industrial em prol da obtenção de alternativas viáveis à recuperação de compostos bioativos de interesse.

2 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Acoplamento de PLE em sistema *on-line* com ESC e outros métodos de extração.
- Avaliação das atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias dos extratos.
- Testar formas alternativas de microencapsulação.
- Caracterizar o extrato selecionado para a microencapsulação quanto à composição química através do MS/MS.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHÃO, F. R. et al. Microencapsulation of bioactive compounds from espresso spent coffee by spray drying. **LWT**, v. 103, n. December 2018, p. 116–124, abr. 2019.
- ACOSTA, E. D.; BOLZAN, A.; LIVIA, M. A. Supercritical extraction of residues *Mezilaurus itauba* and application of mathematical models. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 92–99, 2014.
- AGUIAR, J.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 58, p. 21–39, dez. 2016.
- AGUIRRE-LOREDO, R. Y. et al. Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. **Food Chemistry**, v. 196, p. 560–566, abr. 2016.
- AJITHA BAI, M. D. et al. **The use of sida plant in the preparation of Nayapayam Kashayam**. [s.l: s.n.]. v. 3
- AKBARBAGLU, Z. et al. Influence of spray drying encapsulation on the retention of antioxidant properties and microstructure of flaxseed protein hydrolysates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 178, n. January, p. 421–429, jun. 2019.
- AKHAVAN MAHDAVI, S. et al. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 379–385, abr. 2016.
- ALBERT, L.; FILHO, R. V. Micromorfologia Foliar de Espécies de *Sida* spp.(guanxumas). **Planta daninha**, p. 337–342, 2002.
- ALFREDO, V.-O. et al. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 168–173, jan. 2009.
- ALMA, M. H. et al. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 12, p. 1725–1729, 2003.
- AMAROWICZ, R. et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity, and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*). **Food Chemistry**, v. 121, n. 3, p. 705–711, 2010.
- AMASHUKELI, X. et al. Subcritical Water Extraction of amino acids from atacama deserts soils. **JOURNAL OF GEOPHYSICAL RESEARCH**, v. 112, 2007.
- ANANTHARAJU, P. G. et al. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. **Nutrition Journal**, v. 15, n. 1, p. 99, 1 dez. 2016.
- ANDERSSON, H. et al. Autofluorescence of living cells. **Journal of Microscopy**, v. 191, n. 1, p. 1–7, 1998.
- ANDRADE, K. S. et al. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544–552, 2012.
- ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; REUCK, K. M. DE. International Thermodynamic Tables of the Fluid State : Carbon Dioxide. In: PRESS, O. P. (Ed.). . **Union of Pure and Applied Chemistry, International**. [s.l: s.n.].
- AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.
- BADARINATH, A. V et al. A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 6, p. 2015–2017, 2016.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-

- industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.
- BALLESTEROS, L. F. et al. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623–631, 2017.
- BARBOSA-CANOVAS, G. V.; VEGA-MERCADO, H. **Deshidratación de alimentos / Gustavo V. Barbosa-Canovas, Humberto Vega-Mercado ; traducido por Alberto Ibarz Ribas. -** [s.l.: s.n.].
- BARRALES, F. M. et al. Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids — An application to orange peel. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 9–21, 2018.
- BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulamento de antocianinas - Uma alternativa para o aumento de sua aplicabilidade como ingrediente alimentício. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 36, p. 18–24, 2006.
- BENELLI, P. et al. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 132–141, 2010.
- BERISTAIN, CÉ. I. et al. THERMODYNAMIC BEHAVIOR OF GREEN WHOLE AND DECAFFEINATED COFFEE BEANS DURING ADSORPTION. **Drying Technology**, v. 12, n. 5, p. 1221–1233, jan. 1994.
- BERMEJO, D. V. et al. Effect of cosolvents (ethyl lactate, ethyl acetate and ethanol) on the supercritical CO₂ extraction of caffeine from green tea. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 507–512, 2016.
- BERNA, A. et al. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel; effect of the height of the bed. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 18, n. 3, p. 227–237, 2000.
- BERNARDES, A. L. et al. In vitro bioaccessibility of microencapsulated phenolic compounds of jussara (*Euterpe edulis* Martius) fruit and application in gelatine model-system. **LWT**, v. 102, n. April 2018, p. 173–180, mar. 2019.
- BHATTACHARYA, A. et al. Adsorption, kinetics and equilibrium studies on removal of Cr(VI) from aqueous solutions using different low-cost adsorbents. **Chemical Engineering Journal**, v. 137, n. 3, p. 529–541, 24 maio 2007.
- BIERHALZ, A. C. K. et al. Effect of calcium and/or barium crosslinking on the physical and antimicrobial properties of natamycin-loaded alginate films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 494–501, jul. 2014.
- BIMAKR, M. et al. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 1, p. 67–72, 2011.
- BLAHOVEC, J. Sorption isotherms in materials of biological origin mathematical and physical approach. **Journal of Food Engineering**, v. 65, n. 4, p. 489–495, 2004.
- BLAHOVEC, J.; YANNIOTIS, S. GAB Generalized Equation for Sorption Phenomena. **Food and Bioprocess Technology**, v. 1, n. 1, p. 82–90, 14 mar. 2008.
- BOROSKI, M. et al. **Antioxidantes: PRINCIPIOS E METODOS ANALITICOS**. [s.l.] APPRIS, 2015.
- BORRMANN, D. et al. Microencapsulation of passion fruit (*Passiflora*) juice with n-octenylsuccinate-derivatised starch using spray-drying. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, n. 1, p. 23–27, jan. 2013.
- BOTREL, D. A. et al. Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. **Food Research International**, v. 62, p. 344–352, ago. 2014.

- BOVINI, R. M.; VIEIRA, M. F. . Malvaceae A. juss no parque estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 52, n. 81, p. 17–47, 2001.
- BRANDÃO FERREIRA, M.; MACEDO, G. A. R.; LACA BUENDIA, J. P. Plantas daninhas com possibilidades de forrageiras para bovinos em condições de cerrado. **Planta Daninha**, v. 7, p. 41–48, 1984.
- BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317–333, 27 abr. 2009.
- BRUNNER, G. **Gas Extraction: An Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes**. [s.l.] Steinkopff, 1994.
- BUBALO, M. C. et al. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. **Food and Bioproducts Processing**, v. 109, p. 52–73, 2018.
- CAMEL, V. Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. **The Analyst**, v. 126, n. 7, p. 1182–1193, 2001.
- CAPOTE, F. P.; CASTRO, M. D. L. DE. Ultrasound in analytical chemistry. p. 249–257, 2007.
- CARARETO, N. D. D. et al. Water activity of aqueous solutions of ethylene oxide-propylene oxide block copolymers and maltodextrins. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 27, n. 1, p. 173–181, 2010.
- CARRERA, C. et al. Analytica Chimica Acta Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, v. 732, p. 100–104, 2012.
- CARVALHO, P. E. R.; GAIAD, S. **Árvore do conhecimento espécies arbóreas brasileiras. Agência Embrapa de Informação tecnológica (AGEITEC)**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000ful1e_kyj602wyiv807nyi6s9rqihtf.html>. Acesso em: 4 abr. 2017.
- CARVALHO, R. N. et al. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 35, n. 3, p. 197–204, 2005.
- CASAS, L. et al. SFE kinetics of bioactive compounds from *Helianthus annuus* L. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 9, p. 1445–1453, maio 2009.
- CASTRO, M. C. H. Æ. M. D. L. DE. O R I G I N A L P A P E R Ultrasound-assisted extraction for the analysis of phenolic compounds in strawberries. p. 1106–1112, 2004.
- CHA, K. H. et al. Effect of Pressurized Liquids on Extraction of Antioxidants from *Chlorella vulgaris*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4756–4761, 28 abr. 2010.
- CHACKO, S. M. et al. Beneficial effects of green tea: A literature review. **Chinese Medicine**, v. 5, p. 1–9, 2010.
- CHATURVEDI T.E.; FULUKANI, I., P. . K. Evaluation of free radical scavenging activities of *Sida rhombifolia* extracts. **Indian Journal of Plant Sciences**, v. 4, n. 1, p. 5–10, 2015.
- CHAU, C.-F.; CHEUNG, P. C. K.; WONG, Y.-S. Functional Properties of Protein Concentrates from Three Chinese Indigenous Legume Seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2500–2503, jul. 1997.
- CHAVES, O. et al. Alkaloids and Phenolic Compounds from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 94, 6 jan. 2017.
- CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017.

- CHEMAT, F.; KHAN, M. K. Ultrasonics Sonochemistry Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011.
- CHEN, Y. et al. Direct liquefaction of *Dunaliella tertiolecta* for bio-oil in sub/supercritical ethanol-water. **Bioresource Technology**, v. 124, p. 190–198, 2012.
- CHENG, S. Y. et al. Cosmetic textiles with biological benefits: Gelatin microcapsules containing Vitamin C. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 24, n. 04, 24 ago. 2009.
- CHEOK, C. Y. et al. Optimization of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) extractions from mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) hull using ultrasonic treatments. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 1–7, 2013.
- CHERUBINI, F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 7, p. 1412–1421, 2010.
- CHOI K. K. C.; LEUNG, H. W.; HUIE, C. W., M. P. K. . C. Pressurized liquid extraction of active ingredients (ginsenosides) from medicinal plants using non-ionic surfactant solutions. **Journal of Chromatography A**, v. 983, p. 153–162, 2003.
- CHURIO, O.; VALENZUELA, C. Development and characterization of maltodextrin microparticles to encapsulate heme and non-heme iron. **Lwt**, v. 96, n. May, p. 568–575, 2018.
- CILEK, B. et al. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: Effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. **European Food Research and Technology**, v. 235, n. 4, p. 587–596, 2012.
- COLIVET, J.; OLIVEIRA, A. L.; CARVALHO, R. A. Influence of the bed height on the kinetics of watermelon seed oil extraction with pressurized ethanol. **Separation and Purification Technology**, v. 169, p. 187–195, 2016.
- CONTE, E. et al. Comparison between accelerated solvent extraction and traditional extraction methods for the analysis of the herbicide diflufenican in soil. **Journal of Chromatography A**, v. 765, n. 1, p. 121–125, 1997.
- CORCEL, M. et al. Comparison of UV and visible autofluorescence of wheat grain tissues in macroscopic images of cross-sections and particles. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 127, p. 281–288, set. 2016.
- CUNNINGHAM, S. E. et al. Modelling water absorption of pasta during soaking. **Journal of Food Engineering**, v. 82, n. 4, p. 600–607, out. 2007.
- DA ROSA, C. G. et al. Encapsulation of the phenolic compounds of the blackberry (*Rubus fruticosus*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 527–533, 2014.
- DA SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, 1 fev. 2016.
- DE FRANÇA, L. F.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the extraction of carotene and lipids from pressed palm oil (*Elaeis guineensis*) fibers using supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 18, n. 1, p. 35–47, 2000.
- DE MELO RAMOS, F. et al. Drying of Maltodextrin solution in a vacuum spray dryer. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 146, p. 78–86, 2019.
- DE SOUZA, V. B. et al. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, n. November, p. 39–50, jan. 2015.
- DE VOS, P. et al. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 4, p. 292–302, 2010.
- DEL PILAR SÁNCHEZ-CAMARGO, A. et al. New approaches for the selective extraction of

- bioactive compounds employing bio-based solvents and pressurized green processes. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, n. May, p. 112–120, out. 2017.
- DEL RIO, D. et al. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 14, p. 1818–1892, 2013.
- DEL VALLE, J. M. et al. Supercritical CO₂ processing of pretreated rosehip seeds: effect of process scale on oil extraction kinetics. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 31, n. 2, p. 159–174, 1 out. 2004.
- DEL VALLE, J. M.; DE LA FUENTE, J. C. Supercritical CO₂ extraction of oilseeds: Review of kinetic and equilibrium models(Article). **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 131–160, 2006.
- DEVI, K. P. et al. Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine. **Pharmacological Research**, v. 99, p. 1–10, 2015.
- DHALWAL, K. et al. Evaluation of the antioxidant activity of *Sida cordifolia*. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 9, p. 754–761, 2005.
- DING, J. et al. Fabrication and characterization of soybean oil bodies encapsulated in maltodextrin and chitosan-EGCG conjugates: An in vitro digestibility study. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. September 2018, p. 519–527, set. 2019.
- DIOSADY, L. L. et al. Moisture Sorption Isotherms of Canola Meals, and Applications to Packaging. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 1, p. 204–208, jan. 1996.
- 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, n. 1, p. 43–58, 1999.
- ESTEVINHO, B. N. et al. Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 138–155, 2013.
- FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenols - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 10, p. 510–523, 2010.
- FARAHNAKY, A. et al. Physicochemical and sorption isotherm properties of date syrup powder: Antiplasticizing effect of maltodextrin. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 133–141, 2016.
- FAZAELI, M. et al. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 4, p. 667–675, out. 2012.
- FERNANDES, R. V. D. B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 524–532, 2014.
- FERNÁNDEZ-PONCE, M. T. et al. Pilot-plant scale extraction of phenolic compounds from mango leaves using different green techniques: Kinetic and scale up study. **Chemical Engineering Journal**, v. 299, p. 420–430, 1 set. 2016.
- FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A FITOTERAPIA NO MUNDO ATUAL. v. 33, n. 9, 2010.
- FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper.pdf. v. 54, n. 0260, p. 263–269, 2002.
- FONGIN, S. et al. Effects of maltodextrin and pulp on the water sorption, glass transition, and caking properties of freeze-dried mango powder. **Journal of Food Engineering**, v. 247, n. December 2018, p. 95–103, abr. 2019.
- FRYXELL, P. A. S Ta R S O F S Outh a Merican Issue. n. 12, p. 2014, 2014.
- G WOISKY, R.; SALATINO, A. **Analysis of Propolis: Some Parameters and Procedures for**

Chemical Quality Control. [s.l: s.n.]. v. 37

GARCIA-MENDOZA, M. DEL P. et al. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from juçara (*Euterpe edulis* Mart.) residues using pressurized liquids and supercritical fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 9–16, jan. 2017.

GARCÍA-PLAZAOLA, J. I. et al. Autofluorescence: Biological functions and technical applications. **Plant Science**, v. 236, p. 136–145, jul. 2015.

GARCÍA-TEJEDA, Y. V.; BARRERA-FIGUEROA, V. Least squares fitting-polynomials for determining inflection points in adsorption isotherms of spray-dried açai juice (*Euterpe oleracea* Mart.) and soy sauce powders. **Powder Technology**, v. 342, p. 829–839, 2019.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, nov. 2007.

GÓMEZ, B. et al. Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing. **Trends in Food Science and Technology**, v. 82, n. February, p. 135–147, 2018.

GOMIDE, R. **Operações com sistemas sólidos granulares**. São Paulo: [s.n.].

GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 51, p. 76–87, 2016.

GOUIN, S. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, n. 7–8, p. 330–347, 2004.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Effect of Maltodextrin Addition during Spray Drying of Tomato Pulp in Dehumidified Air: I. Drying Kinetics and Product Recovery. **Drying Technology**, v. 26, n. 6, p. 714–725, 12 maio 2008.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A new technique for spray-dried encapsulation of lycopene. **Drying Technology**, v. 30, n. 6, p. 641–652, 2012.

GOYAL, A. et al. Development and physico-chemical characterization of microencapsulated flaxseed oil powder: A functional ingredient for omega-3 fortification. **Powder Technology**, v. 286, p. 527–537, dez. 2015.

GRANATO, D. et al. Trends in Chemometrics: Food Authentication, Microbiology, and Effects of Processing. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 3, p. 663–677, maio 2018.

GRIGONIS, D. et al. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, n. 3, p. 223–233, 2005.

GUELI, A. M.; GALLO, S.; PASQUALE, S. Optical and colorimetric characterization on binary mixtures prepared with coloured and white historical pigments. **Dyes and Pigments**, v. 157, n. April, p. 342–350, 2018.

GÜLÇİN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Arch Toxicol**, v. 86, n. 3, p. 345–391, 2012.

GUPTA, M. et al. Free Radical Scavenging Activity of *Sida cordifolia* Linn. Extracts Measured by Hydrogen Peroxide, DPPH, ABTS and Ferric Reducing Antioxidant Methods. **International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology**, v. 3, n. 8, p. 114–122, 10 ago. 2016.

GUTIÉRREZ-GRIJALVA, E. P.; CASTILLO, R. Review : Dietary phenolic compounds , health benefits and bioaccessibility Review: dietary phenolic compounds , health benefits and bioaccessibility. v. 66, n. June, 2016.

HALL, R. M. et al. Simulating large scale SFE applied to recover bioactive compounds from papaya seeds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 140, p. 302–309, 1 out. 2018.

- HARRIS, P. J.; HARTLEY, R. D. Detection of bound ferulic acid in cell walls of the Gramineae by ultraviolet fluorescence microscopy. **Nature**, v. 259, n. 5543, p. 508–510, 1976.
- HAWTHORNE, S. B. et al. Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. **Journal of Chromatography A**, v. 892, n. 1–2, p. 421–433, 2000.
- HEEMKEN, O. P.; THEOBALD, N.; WENCLAWIAK, B. W. Comparison of ASE and SFE with Soxhlet, Sonication, and Methanolic Saponification Extractions for the Determination of Organic Micropollutants in Marine Particulate Matter. **Analytical Chemistry**, v. 69, n. 11, p. 2171–2180, 1997.
- HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.
- HERRERO, M. et al. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2495–2511, 2010.
- HERRERO, M. et al. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 67–83, 2013.
- HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBAÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 136–148, 2006.
- HERRERO, M.; IBAÑEZ, E. Green extraction processes, biorefineries and sustainability: Recovery of high added-value products from natural sources. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 134, n. December 2017, p. 252–259, 2018.
- HINSELY, R. S. **Economic uses of Malvaceae**. Disponível em: <<http://www.malvaceae.info/Economic/Overview.html>>. Acesso em: 29 mar. 2017.
- HU, J. et al. Pressurized liquid extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with bioethanol : An efficient and sustainable approach. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 34, p. 5765–5773, 2011.
- HUANG, Z. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of Baizhu: Experiments and modeling. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 58, n. 1, p. 31–39, 2011.
- HUANG, Z.; SHI, X. HAN; JIANG, W. JUAN. Theoretical models for supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 2–26, 2012.
- HUNT, R. W. G.; POINTER, M. R. **Measuring Colour**. [s.l.] Wiley, 2011.
- HURVICH, L. M.; JAMESON, D. An opponent-process theory of color vision. **Psychological Review**, v. 64, n. 6 PART 1, p. 384–404, 1957.
- HUTZLER, P. et al. Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 323, p. 953–965, 1 jun. 1998.
- IGLESIAS, H. A.; CHIRIFE, J.; VIOLLAZ, P. Thermodynamics of water vapour sorption by sugar beet root. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 11, n. 1, p. 91–101, fev. 1976.
- IONITA, P. Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species? **Chemical Papers**, v. 59, n. 1, p. 11–16, 2005.
- ISLAM, M. I.-U.; EDRISI, M.; LANGRISH, T. Improving Process Yield by Adding WPI to Lactose During Crystallization and Spray Drying Under High-Humidity Conditions. **Drying Technology**, v. 31, n. 4, p. 393–404, 12 mar. 2013.
- JABBARI, M. et al. Kinetic solvent effects on the reaction between flavonoid naringenin and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical in different aqueous solutions of ethanol: An experimental and

- theoretical study. **Journal of Molecular Liquids**, v. 196, p. 381–391, 1 ago. 2014.
- JABBARI, M.; GHARIB, F. Solvent dependence on antioxidant activity of some water-insoluble flavonoids and their cerium(IV) complexes. **Journal of Molecular Liquids**, v. 168, p. 36–41, 1 abr. 2012.
- JACOTET-NAVARRO, M. et al. What is the best ethanol-water ratio for the extraction of antioxidants from rosemary? Impact of the solvent on yield, composition, and activity of the extracts. **ELECTROPHORESIS**, v. 39, n. 15, p. 1946–1956, ago. 2018.
- JADHAV, D. et al. Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 4, p. 421–426, 2009.
- JANISZEWSKA-TURAK, E. Carotenoids microencapsulation by spray drying method and supercritical micronization. **Food Research International**, v. 99, p. 891–901, 2017.
- JANISZEWSKA-TURAK, E. et al. The influence of carrier material on some physical and structural properties of carrot juice microcapsules. **Food Chemistry**, v. 236, p. 134–141, dez. 2017.
- JANISZEWSKA, E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. **Powder Technology**, v. 264, p. 190–196, 2014.
- JOANA GIL-CHÁVEZ, G. et al. 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, jan. 2013.
- KALUŠEVIĆ, A. M. et al. Effects of different carrier materials on physicochemical properties of microencapsulated grape skin extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 11, p. 3411–3420, 14 out. 2017.
- KANG, Y.-R. et al. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 272, n. March 2018, p. 337–346, jan. 2019.
- KANYUCK, K. M. et al. Temperature influences on network formation of low DE maltodextrin gels. **Carbohydrate Polymers**, v. 218, n. January, p. 170–178, ago. 2019.
- KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. 1, p. 41–60, 2009.
- KARIOTI, A. et al. Composition and antioxidant activity of the essential oils of *Xylopia aethiopica* (Dun) A. Rich. (Annonaceae) leaves, stem bark, root bark, and fresh and dried fruits, growing in Ghana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 26, p. 8094–8098, 2004.
- KASHYAP, D. et al. Kaempferol – A dietary anticancer molecule with multiple mechanisms of action: Recent trends and advancements. **Journal of Functional Foods**, v. 30, p. 203–219, 2017.
- KAWAMURA, A. et al. Effect of solvent polarity and adsorbed water on reaction between hexyltriethoxysilane and fumed silica. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 492, p. 249–254, 2016.
- KHAW, K.-Y. et al. Solvent Supercritical Fluid Technologies to Extract Bioactive Compounds from Natural Sources: A Review. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1186, 14 jul. 2017.
- KHOSRAVI-DARANI, K. et al. Effect of Process Variables on Supercritical Fluid Disruption of *Ralstonia eutropha* Cells for Poly(R-hydroxybutyrate) Recovery. **Biotechnology Progress**, v. 20, n. 6, p. 1757–1765, 3 dez. 2004.
- KIM, K. M. et al. Coniferaldehyde inhibits LPS-induced apoptosis through the PKC α/β II/Nrf-2/HO-1 dependent pathway in RAW264.7 macrophage cells. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 48, p. 85–93, 2016.
- KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. Tomo II ed. São Paulo: [s.n.].

- KLEIN, T. et al. Microparticles containing guaraná extract obtained by spray-drying technique: development and characterization. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 3, p. 292–300, maio 2015.
- KORDALI, S. et al. Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 1408–1416, 2005.
- KOTNIK, P.; ŠKERGET, M.; KNEZ, Ž. Supercritical fluid extraction of chamomile flower heads: Comparison with conventional extraction, kinetics and scale-up. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, n. 2, p. 192–198, 1 dez. 2007.
- KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 14, n. 8, p. 737–743, ago. 2004.
- KUMAR, A.; THAKUR, B. K.; DE, S. Selective Extraction of (-)Epigallocatechin Gallate from Green Tea Leaves Using Two-Stage Infusion Coupled with Membrane Separation. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 6, p. 2568–2577, 2012.
- KUMAR, B. R. Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 7, n. 6, p. 349–364, 2017.
- KUMAR, N.; PRUTHI, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. **Biotechnology Reports**, v. 4, n. 1, p. 86–93, 2014.
- KUMAR, P. D. et al. Ethno Medicinal and Therapeutic Potential of *Sida Acuta* Burm. F. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 4, n. 1, p. 88–92, 2013.
- LASTA, H. F. B. **Potencial antioxidante dos extratos dos resíduos de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.) obtidos a alta e baixa pressão**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.
- LEWICKI, P. P. The applicability of the GAB model to food water sorption isotherms. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 32, n. 6, p. 553–557, dez. 1997.
- LI R.; MANSUY, L.; FLECK, S.; FAURE, P., Y. . M. Comparison of pressurized liquid extraction with classical solvent extraction and microwave-assisted extraction—application to the investigation of the artificial maturation of Mahakam coal. **Fuel**, v. 81, n. 6, p. 747–756, 2002.
- LIÉBANES, M. D. et al. Equilibrium moisture isotherms of two-phase solid olive oil by-products: Adsorption process thermodynamics. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 282–283, p. 298–306, jul. 2006.
- LIN, S.; CHANG, C. J.; DENG, T. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers Enzymatic hot pressurized fluids extraction of polyphenolics from *Pinus taiwanensis* and *Pinus morrissonicola*. v. 40, p. 136–142, 2009.
- LOPES, A. M. V. **Plantas utilizadas na medicina popular do Rio Grande do Sul**. Santa Maria: [s.n.].
- LÓPEZ-CÓRDOBA, A. et al. Compressed tablets based on mineral-functionalized starch and co-crystallized sucrose with natural antioxidants. **Journal of Food Engineering**, v. 146, p. 234–242, fev. 2015.
- LOPRESTO, C. G. et al. A non-conventional method to extract D-limonene from waste lemon peels and comparison with traditional Soxhlet extraction. **Separation and Purification Technology**, v. 137, p. 13–20, 2014.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. . **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed ed. [s.l: s.n.].
- LOURENÇO BRANDÃO, J. et al. Synopsis of *Sida* (Malvaceae, Malvoideae, Malveae) in the state

- of Pernambuco, Brazil. **Phytotaxa**, v. 307, n. 3, p. 205, 26 maio 2017.
- LUQUE-GARCI, J. L.; CASTRO, M. D. L. DE. Ultrasound : a powerful tool for leaching. v. 22, n. 1, p. 41–47, 2003.
- LUQUE DE CASTRO, M. .; GARCÍA-AYUSO, L. . Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, n. 1–2, p. 1–10, 10 ago. 1998.
- LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 16 abr. 2010.
- LUTZ, A. **Óleos E Gorduras. Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**. [s.l: s.n.].
- MACHADO, A. P. et al. 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, A. P. D. F. et al. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. **Food Research International**, v. 77, p. 675–683, 2015.
- MAHDAVEE KHAZAEI, K. et al. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal’s anthocyanins and evaluating their storage stability and color. **Carbohydrate Polymers**, v. 105, n. 1, p. 57–62, maio 2014.
- MAHDAVI, S. A. et al. Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers: A Review. **Drying Technology International Journal**, v. 32, n. 5, p. 509–518, 2014.
- MANACH, C.; ET AL. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans.II.Review of 93 intervention studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 243S–255S, 2005.
- MANCUSO, C.; SANTANGELO, R. Ferulic acid: Pharmacological and toxicological aspects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 65, p. 185–195, 2014.
- MARCUS, Y. Extraction by Subcritical and Supercritical Water, Methanol, Ethanol and Their Mixtures. **Separations**, v. 5, n. 1, p. 4, 1 jan. 2018.
- MARKOM, M. et al. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 3, p. 487–496, jan. 2007.
- MARQUES, B. C.; JORGE, L. M. DE M.; JORGE, R. M. M. Hydration kinetics, physicochemical composition, and textural changes of transgenic corn kernels of flint, semi-flint, and dent varieties. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 34, n. 1, p. 88–93, mar. 2014.
- MARSAL, A. et al. Supercritical CO₂ extraction as a clean degreasing process in the leather industry. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 16, n. 3, p. 217–223, 2000.
- MARTINES, M. A. U. et al. O Efeito Do Ultra-Som Em Reações Químicas. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 251–256, 2000.
- MARTÍNEZ, J. et al. Multicomponent Model To Describe Extraction of Ginger Oleoresin with Supercritical Carbon Dioxide. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 5, p. 1057–1063, mar. 2003.
- MASLANKA, R.; KWOLEK-MIREK, M.; ZADRAG-TECZA, R. Autofluorescence of yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells caused by glucose metabolism products and its methodological implications. **Journal of Microbiological Methods**, v. 146, n. December 2017, p. 55–60, mar. 2018.
- MATHEWS, J. A. et al. A conceptual lignocellulosic “feed+fuel” biorefinery and its application to the linked biofuel and cattle raising industries in Brazil. **Energy Policy**, v. 39, n. 9, p. 4932–4938, 2011.

- MAZZUTTI, S. et al. The Journal of Supercritical Fluids Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis* : Antioxidant and antimicrobial activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 48–56, 2012.
- MAZZUTTI, S. **Extração de compostos com importância biológica provenientes de *Plantago major* e *Plantago lanceolata* através de técnicas ambientalmente seguras**. [s.l.] Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.
- MAZZUTTI, S. et al. Integrated green-based processes using supercritical CO₂ and pressurized ethanol applied to recover antioxidant compounds from cocoa (*Theobroma cacao*) bean hulls. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 52–59, maio 2018.
- MCGRATH, J. R.; BECK, M.; HILL, M. E. Replicating Red: Analysis of ceramic slip color with CIELAB color data. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 14, n. April, p. 432–438, ago. 2017.
- MEIRELES, M. A. A. Extraction of Bioactive Compounds from Latin American Plants. In: PRESS, B. R. C. (Ed.). **Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds**. [s.l.: s.n.]. p. 243–274.
- MEIRELES, M. A. A. Extraction of bioactive compounds from Latin American plants. In: **Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds**. [s.l.] CRC Press—Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2008. p. 243–274.
- MELGOSA, M. et al. Suprathreshold color-difference ellipsoids for surface colors. **Color Research and Application**, v. 22, n. 3, p. 148–155, 1997.
- MEZZOMO, N. et al. The Journal of Supercritical Fluids Pink shrimp (*P. brasiliensis* and *P. paulensis*) residue: Supercritical fluid extraction of carotenoid fraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 74, p. 22–33, 2013.
- MEZZOMO, N.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 1, p. 10–16, 2009.
- MINAMI, E.; SAKA, S. Decomposition behavior of woody biomass in water-added supercritical methanol. **Journal of Wood Science**, v. 51, n. 4, p. 395–400, 2005.
- MINOLTA, K. **Precise color communication: color control from perception to Instrumentation**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color_communication.pdf>.
- MONICI, M. Cell and tissue autofluorescence research and diagnostic applications. **Biotechnology Annual Review**, v. 11, p. 227–256, 1 jan. 2005.
- MONOD, J. The growth of bacterial cultures. **Annual Review of Microbiology**, v. 3, n. 1, p. 371–394, 1949.
- MOON, J.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant Assays for Plant and Food Components Antioxidant Assays for Plant and Food Components. v. 57, n. January, p. 1655–1666, 2009.
- MOREIRA, R. et al. Water sorption isotherms and air drying kinetics modelling of the brown seaweed *Bifurcaria bifurcata*. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 1, p. 609–618, 14 fev. 2016.
- MOURA, L. S. et al. Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*): Global yield, composition and kinetic data. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 35, n. 3, p. 212–219, 2005.
- MUKHOPADHYAY, M. **Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide**. [s.l.] CRC Press, 2000.
- MUÑOZ, J. A. D.; ELIZALDE, I.; ANCHEYTA, J. Scale-up of experimental data from an isothermal bench-scale hydrotreatment plant to adiabatic reactors. **Fuel**, v. 86, n. 9 SPEC. ISS., p. 1270–1277, 2007.

- MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8–18, 2011.
- NAMBIAR, R. B.; SELLAMUTHU, P. S.; PERUMAL, A. B. Microencapsulation of Tender Coconut Water by Spray Drying: Effect of Moringa oleifera Gum, Maltodextrin Concentrations, and Inlet Temperature on Powder Qualities. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 9, p. 1668–1684, 13 set. 2017.
- NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806–1815, 2011.
- NENADIS, N. et al. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS ^{•+} Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 15, p. 4669–4674, 2004.
- NI, Y.; HU, Q. Alcell® lignin solubility in ethanol–water mixtures. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 57, n. 12, p. 1441–1446, 13 nov. 1995.
- OJWANG, L. O. et al. Proanthocyanidin profile of cowpea (*Vigna unguiculata*) reveals catechin-O-glucoside as the dominant compound. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1–4, p. 35–43, 2013.
- OKIYAMA, D. C. G. et al. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. **Food Research International**, v. 114, n. July, p. 20–29, 2018.
- OLIVEIRA, E. L. G.; SILVESTRE, A. J. D.; SILVA, C. M. Review of kinetic models for supercritical fluid extraction. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 89, n. 7, p. 1104–1117, 2011.
- OSORIO-TOBÓN, J. F. et al. Extraction of curcuminoids from deflavored turmeric (*Curcuma longa* L.) using pressurized liquids: Process integration and economic evaluation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 167–174, 2014.
- OTERO-PAREJA, M. et al. Green Extraction of Antioxidants from Different Varieties of Red Grape Pomace. **Molecules**, v. 20, n. 6, p. 9686–9702, 26 maio 2015.
- OTERO, R. et al. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia: Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of Bothrops atrox venom. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, n. 1–2, p. 233–241, 2000.
- OUÉDRAOGO P.; KONATÉ, K.; BARRO, N.; SAWADOGO, L.L.; M. . Z. Effect of long-term use of *Sida rhombifolia* L. extract on haemato-biochemical parameters of experimental animals. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 4, n. 1, p. 18–24, 2013.
- OZKAN, G. et al. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, n. February 2018, p. 494–506, 2019.
- PAINI, M. et al. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 177–186, 2015a.
- PAINI, M. et al. Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 177–186, jun. 2015b.
- PANNETON, B.; CLÉMENT, A.; LAGACÉ, L. Potential of fluorescence spectroscopy for the characterisation of maple syrup flavours. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 13, p. 3279–3285, out. 2013.
- PARAMERA, E. I.; KONTELES, S. J.; KARATHANOS, V. T. Stability and release properties of curcumin encapsulated in *Saccharomyces cerevisiae*, β -cyclodextrin and modified starch. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 913–922, abr. 2011.
- PASQUEL REÁTEGUI, J. L. et al. Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus*

- sp.) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 223–233, 2014.
- PATSILINAKOS, A. et al. Carotenoid content of Goji berries: CIELAB, HPLC-DAD analyses and quantitative correlation. **Food Chemistry**, v. 268, n. May, p. 49–56, 2018.
- PAWLIKOWSKA-PAWŁĘGA, B. et al. Modification of membranes by quercetin, a naturally occurring flavonoid, via its incorporation in the polar head group. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1768, n. 9, p. 2195–2204, set. 2007.
- PEANPARKDEE, M.; IWAMOTO, S.; YAMAUCHI, R. MICROENCAPSULATION: A REVIEW OF APPLICATIONS IN THE FOOD AND PHARMACEUTICAL INDUSTRIES. **Reviews in Agricultural Science**, v. 4, 30 nov. 2016.
- 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, 3 jun. 2010.
- PEREIRA, D. M. et al. Phenolics: From chemistry to biology. **Molecules**, v. 14, n. 6, p. 2202–2211, 2009.
- PEREIRA, R. G. et al. Extraction of lignans from *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn using pressurized liquids and low pressure methods. **Separation and Purification Technology**, v. 158, p. 204–211, 2016.
- PESCHEL, W. et al. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 137–150, 2006.
- PETRUSSA, E. et al. Plant Flavonoids—Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 7, p. 14950–14973, 2013.
- PETTINATO, M. et al. Encapsulation of Antioxidants from Spent Coffee Ground Extracts by Spray Drying. **Chemical Engineering Transactions**, v. 57, p. 1219–1224, 2017.
- PINGRET, D.; FABIANO-TIXIER, A. ; CHEMAT, F. Ultrasound-assisted extraction. In: (ED.), J. P. M. R. (Ed.). **Natural product extraction: Principles and applications**. [s.l.] Publishing, Cambridge (UK), 2013. p. 89–112.
- PINHEIRO, A. A. V. **Contribuição para o conhecimento fitoquímico de *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) e avaliação da atividade antimicrobiana do seu óleo essencial**. [s.l.] Universidade Federal da Paraíba, 2016.
- PLANTS OF THE WORLD ONLINE. **Sida**. Disponível em: <<http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:327150-2#bibliography>>. Acesso em: 11 jun. 2017.
- PLAZA, M. et al. Neoformation of antioxidants in glycation model systems treated under subcritical water extraction conditions. **Food Research International**, v. 43, n. 4, p. 1123–1129, 2010.
- PLAZA, M.; TURNER, C. Pressurized Hot Water Extraction of Bioactives. In: **Comprehensive Analytical Chemistry**. [s.l.] The Authors, 2017. v. 71p. 53–82.
- PRADO, J. M. et al. Supercritical fluid extraction of grape seed: Process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 2, p. 249–257, 2012.
- PRASANTHA, B. D. R.; AMUNOGODA, P. N. R. J. Moisture Adsorption Characteristics of Solar-Dehydrated Mango and Jackfruit. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 7, p. 1720–1728, 10 jul. 2013.
- PU, J.; BANKSTON, J. D.; SATHIVEL, S. Developing microencapsulated flaxseed oil containing shrimp (*Litopenaeus setiferus*) astaxanthin using a pilot scale spray dryer. **Biosystems Engineering**, v. 108, n. 2, p. 121–132, 2011.
- PUTNIK, P. et al. High-pressure recovery of anthocyanins from grape skin pomace (*Vitis vinifera*

- cv. Teran) at moderate temperature. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 1, p. e13342, jan. 2018.
- RAJABI, H. et al. Retention of saffron bioactive components by spray drying encapsulation using maltodextrin, gum Arabic and gelatin as wall materials. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 327–337, 2015.
- RAMACHANDRA RAO, S.; RAVISHANKAR, G. . Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 20, n. 2, p. 101–153, 1 maio 2002.
- RAMAKRISHNAN, Y. et al. Effect of wall materials on the spray drying efficiency, powder properties and stability of bioactive compounds in tamarillo juice microencapsulation. **Powder Technology**, v. 328, p. 406–414, abr. 2018.
- RAMÍREZ, M. J.; GIRALDO, G. I.; ORREGO, C. E. Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. **Powder Technology**, v. 277, p. 89–96, 2015.
- RANA, S. S.; PRADHAN, R. C.; MISHRA, S. Image analysis to quantify the browning in fresh cut tender jackfruit slices. **Food Chemistry**, v. 278, n. August 2018, p. 185–189, 2019.
- RANDHIR, R.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 13, n. 3, p. 295–307, 2004.
- RAO, L. et al. Effect of ultrafiltration and fining adsorbents on the clarification of green tea. **Journal of Food Engineering**, v. 102, n. 4, p. 321–326, 2011.
- RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v. 13, p. 76–83, 2016.
- REZENDE, Y. R. R. S.; NOGUEIRA, J. P.; NARAIN, N. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. **Food Chemistry**, v. 254, n. January, p. 281–291, 2018.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933–956, 1996.
- RICHTER, B. E. et al. Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 6, p. 1033–1039, 1 jan. 1996.
- ROBINEAU, L. G. **Hacia una farmacopea caribeña**. Disponível em: <<https://issuu.com/scduag/docs/bua16007-2>>. Acesso em: 4 abr. 2017.
- ROCHA, J. DE C. G. et al. Microencapsulation by atomization of the mixture of phenolic extracts. **Powder Technology**, v. 343, p. 317–325, 2019.
- RONDÓN, J. B. La subfamilia Malvoideae (Malvaceae s.l.) en el occidente del estado Sucre. v. 9, n. 2003, p. 599–621, 2009.
- ROSTAGNO, M. A.; D'ARRIGO, M.; MARTÍNEZ, J. A. Combinatory and hyphenated sample preparation for the determination of bioactive compounds in foods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 6, p. 553–561, 2010.
- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; OWEN, S. C. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Sixth ed. London, Pharmaceutical Press: [s.n.].
- SAAVEDRA-LEOS, Z. et al. Technological Application of Maltodextrins According to the Degree of Polymerization. **Molecules**, v. 20, n. 12, p. 21067–21081, 27 nov. 2015.
- SANCHEZ-MORENO, C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 3, p. 121–137, 1 jun. 2002.

- SANTOS, D. T. et al. Pressurized Organic Solvent Extraction with On-line Particle Formation by Supercritical Anti Solvent Processes. **Food and Public Health**, v. 2, n. 6, p. 231–240, 1 dez. 2012.
- SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba skins. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 3, p. 444–452, 2012.
- SANTOS, P. et al. Ultrasonics Sonochemistry Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L .) assisted by ultrasound. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 22, p. 78–88, 2015.
- SANTOS, S. S. et al. Antioxidant compounds from blackberry (*Rubus fruticosus*) pomace: Microencapsulation by spray-dryer and pH stability evaluation. **Food Packaging and Shelf Life**, n. June, p. 100177, dez. 2017.
- SANTOS, V. E. N.; MAGRINI, A. Biorefining and industrial symbiosis: A proposal for regional development in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v. 177, p. 19–33, 2018.
- SARABANDI, K. et al. Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. **Journal of Food Engineering**, v. 237, n. May, p. 86–95, nov. 2018.
- SARTORI, R. B. et al. Supercritical extraction of pesticides from banana: Experimental and modeling. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, n. March, p. 149–158, 2017.
- SERRA, A. T. et al. Processing cherries (*Prunus avium*) using supercritical fluid technology. Part 1: Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 184–191, 2010.
- SETYANINGSIH, W. et al. Optimization of the ultrasound-assisted extraction of melatonin from red rice (*Oryza sativa*) grains through a response surface methodology. **Applied Acoustics**, v. 103, p. 129–135, 2016.
- SHAMAEI, S. et al. Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 101–112, 2017.
- SHARMA, O. P.; BHAT, T. K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1202–1205, 15 abr. 2009.
- SHASHANK, K.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids. **Hindawi The Scientific World Journal**, v. 2013, n. 12, p. 533–548, 2013.
- SHI, Q.; FANG, Z.; BHANDARI, B. Effect of Addition of Whey Protein Isolate on Spray-Drying Behavior of Honey with Maltodextrin as a Carrier Material. **Drying Technology**, v. 31, n. 13–14, p. 1681–1692, 26 out. 2013.
- SHISHIR, M. R. I.; CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science and Technology**, v. 65, p. 49–67, 2017.
- SHU, B. et al. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. **Journal of Food Engineering**, v. 76, n. 4, p. 664–669, out. 2006.
- SILVA, D. A. et al. Constituintes químicos e atividade antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Quimica Nova**, v. 29, n. 6, p. 1250–1254, 2006.
- SILVA, E. K. et al. Water adsorption in rosemary essential oil microparticles: Kinetics, thermodynamics and storage conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 140, p. 39–45, nov. 2014.
- SILVA, E. K. et al. Thermodynamic properties, kinetics and adsorption mechanisms of Swiss cheese bioaroma powder. **Powder Technology**, v. 272, p. 181–188, mar. 2015.
- SILVA, K. A. et al. Olive oil and lemon salad dressing microencapsulated by freeze-drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 569–574, mar. 2013.

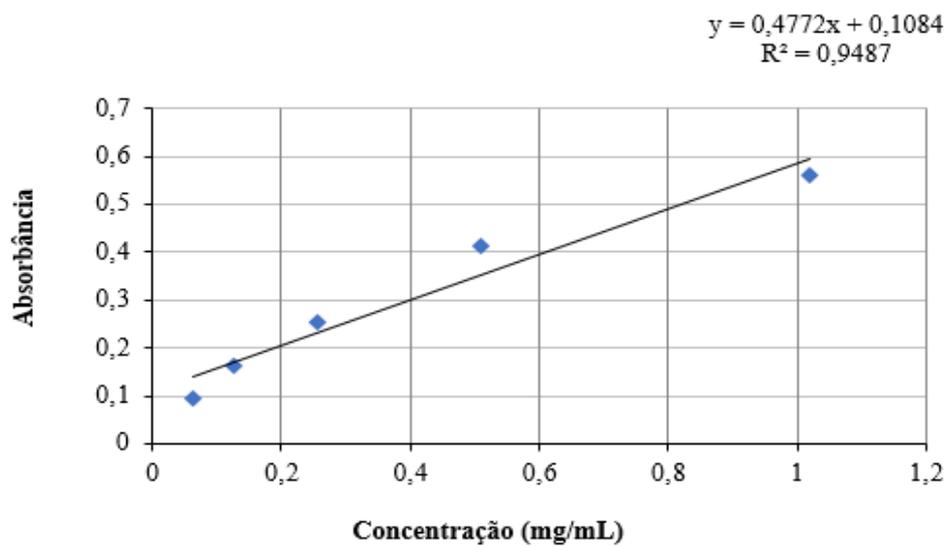
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. [s.l.] UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2004.
- SING, K. S. W. et al. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendations 1984). **Pure and Applied Chemistry**, v. 57, n. 4, p. 603–619, 1 jan. 1985.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144 LP-158, 1 jan. 1965.
- SIRIWATANAMETANON, N.; HEINRICH, M. **The Thai Medicinal Plant *Gynura pseudochina* var. *hispid*: Chemical Composition and in vitro NF-KB Inhibitory Activity** *Natural Product Communications*, 2011.
- SOUSA, L. DOS S. et al. Purification of polyphenols from green tea leaves by ultrasound assisted ultrafiltration process. **Separation and Purification Technology**, v. 168, p. 188–198, 2016.
- SOUZA, A. L. R. et al. Microencapsulation by spray drying of a lycopene-rich tomato concentrate: Characterization and stability. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, n. October 2017, p. 286–292, 2018.
- SOUZA, S. P.; GOPAL, A. R.; SEABRA, J. E. A. Life cycle assessment of biofuels from an integrated Brazilian algae-sugarcane biorefinery. **Energy**, v. 81, p. 373–381, 2015.
- SOVOVA, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p. 409–414, 1994.
- SOVOVÁ, H. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, n. 1, p. 35–52, 2005.
- SOVOVÁ, H. Broken-and-intact cell model for supercritical fluid extraction: Its origin and limits. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 129, p. 3–8, 2017.
- SOVOVÁ, H.; SAJFRTOVÁ, M.; STATEVA, R. P. A novel model for multicomponent supercritical fluid extraction and its application to *Ruta graveolens*. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 102–112, 2017.
- SRINITHYA B, M. S. M. AN OVERVIEW ON THE BIOLOGICAL PERSPECTIVES OF *SIDA CORDIFOLIA* LINN. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 0975-1491, p. 15–17, 2014.
- SUGANYA, V.; ANURADHA, V. Microencapsulation and Nanoencapsulation: A Review. **International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, n. 3, p. 233–239, 2017.
- SUTRADHAR, R. K. et al. Bioactive flavones of *Sida cordifolia*. **Phytochemistry Letters**, v. 1, n. 4, p. 179–182, 12 dez. 2008.
- SZULC, K.; LENART, A. Water vapour adsorption properties of agglomerated baby food powders. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 1, p. 135–141, mar. 2012.
- TALANSIER, E. et al. Supercritical fluid extraction of vetiver roots: A study of SFE kinetics. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 2, p. 200–208, 2008.
- TEIXEIRA, A. et al. Natural Bioactive Compounds from Winery By-Products as Health Promoters: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 15638–15678, 4 set. 2014.
- THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 669–675, 1 set. 2006.
- THOUNAOJAM, M. C. et al. Cardioprotective effect of *Sida rhomboides*. Roxb extract against isoproterenol induced myocardial necrosis in rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 63, n. 4, p. 351–356, 2011.

- TOMA, M. et al. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. v. 8, p. 137–142, 2001.
- TONTUL, I.; TOPUZ, A. Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 91–102, maio 2017.
- TRABELSI, D. et al. Supercritical extraction from *Citrus aurantium amara* peels using CO₂ with ethanol as co-solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 117, p. 33–39, 2016.
- TSALI, A.; GOULA, A. M. Valorization of grape pomace: Encapsulation and storage stability of its phenolic extract. **Powder Technology**, p. #pagerange#, 2018.
- TURNER, C.; WALDEBÄCK, M. Principles of pressurized fluid extraction and environmental, food and agricultural applications. **Separation, Extraction and Concentration Processes in the Food, Beverage and Nutraceutical Industries**, p. 39–70, 1 jan. 2013.
- TYAGI, V. V. et al. Development of phase change materials based microencapsulated technology for buildings: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 2, p. 1373–1391, 2011.
- UMESHA, S. S.; MONAHAR, B.; NAIDU, K. A. Microencapsulation of α -linolenic acid-rich garden cress seed oil: Physical characteristics and oxidative stability. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, n. 12, p. 1474–1482, dez. 2013.
- UQUICHE, E.; MARTÍNEZ, M. Glandular trichome disruption by rapid CO₂ depressurization as pretreatment for recovery of essential oil from *Leptocarpha rivularis* leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 522–528, 2016.
- VALENTOVÁ, K. et al. Isoquercitrin: Pharmacology, toxicology, and metabolism. **Food and Chemical Toxicology**, v. 68, p. 267–282, 2014.
- VALENZUELA, C.; AGUILERA, J. M. Effects of maltodextrin on hygroscopicity and crispness of apple leathers. **Journal of Food Engineering**, v. 144, p. 1–9, 2015.
- VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R. et al. Phenolic compounds: Their journey after intake. **Food and Function**, v. 5, n. 2, p. 189–197, 2014.
- VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etno- botânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa. **Iheringia Série Botânica**, v. 61, n. 2446–8231, p. 83–103, 2006.
- VENKATESH, S. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Sida rhomboidea* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 229–232, 1999.
- VIDOT, K. et al. Phenolic distribution in apple epidermal and outer cortex tissue by multispectral deep-UV autofluorescence cryo-imaging. **Plant Science**, v. 283, n. March, p. 51–59, jun. 2019.
- VIGANÓ, J. et al. Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse. **FRIN**, v. 85, p. 51–58, 2016a.
- VIGANÓ, J. et al. Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 382–390, 2016b.
- VILA, M. M. D. C.; CHAUD, M. V.; BALCÃO, V. M. Microencapsulation of Natural Anti-Oxidant Pigments. **Microencapsulation and Microspheres for Food Applications**, p. 369–389, 1 jan. 2015.
- VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 2–20, 2010.
- WANG, S. et al. Spray-drying of curcumin-loaded octenylsuccinated corn dextrin micelles stabilized with maltodextrin. **Powder Technology**, v. 307, p. 56–62, 2017.
- WANG, Y. et al. [Effect of the Wnt/LRP5/ β -catenin signaling pathway on the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis]. **Zhonghua fu chan ke za zhi**, v. 46, n. 10, p. 769–772, 2011.
- WEINHOLD, T. DE S. et al. *Polygala cyparissias* oleoresin: Comparing CO₂ and classical organic

- solvent extractions. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 47, n. 1, p. 109–117, 2008.
- WIJNGAARD, H. et al. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. **FRIN**, v. 46, n. 2, p. 505–513, 2012a.
- WIJNGAARD, H. et al. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 505–513, maio 2012b.
- WU, D. D. et al. Preparation and characterization of maltodextrin-based polyurethane. **Carbohydrate Polymers**, v. 194, n. March, p. 236–244, ago. 2018.
- WU, T. Y. et al. **Advances in Ultrasound Technology for Environmental Remediation**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013.
- XI, J.; YAN, L.; HE, L. Pressure-dependent kinetic modeling of solid-liquid extraction of the major green tea constituents. **Separation and Purification Technology**, v. 133, p. 155–159, 2014.
- YAO, L. H. et al. Flavonoids in Food and Their Health Benefits. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 59, n. 3, p. 113–122, 2004.
- YE, Q.; GEORGES, N.; SELOMULYA, C. Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 78, n. June, p. 167–179, 2018.
- YUAN, X. Z. et al. Sub- and supercritical liquefaction of rice straw in the presence of ethanol-water and 2-propanol-water mixture. **Energy**, v. 32, n. 11, p. 2081–2088, 2007.
- ZHANG, B. et al. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase and pancreatic lipase. **Food Chemistry**, v. 172, p. 862–872, 2015a.
- ZHANG, L. et al. Maltodextrin: A consummate carrier for spray-drying of xylooligosaccharides. **Food Research International**, v. 106, n. October 2017, p. 383–393, abr. 2018.
- ZHANG, X. et al. Optimising the extraction of tea polyphenols, (–)-epigallocatechin gallate and theanine from summer green tea by using response surface methodology. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 2151–2157, out. 2012.
- ZHANG, Y.-J. et al. Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. **Molecules**, v. 20, n. 12, p. 21138–21156, 27 nov. 2015b.
- ZHANG, Y. et al. Modified SPI improves the emulsion properties and oxidative stability of fish oil microcapsules. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 108–117, out. 2015c.
- ZHENG, Y.; LIN, H.-M.; TSAO, G. T. Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide steam explosion. **Biotechnology progress**, v. 14, p. 890–896, 1998.
- ZHOU, Y. et al. Photocrosslinked maleilated chitosan/methacrylated poly (vinyl alcohol) bicomponent nanofibrous scaffolds for use as potential wound dressings. **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 220–226, jul. 2017.
- ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. No Title. In: UNIVERSIDADE, P. A. E. DA; UFSC, U. E. DA (Eds.). . **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed ed. [s.l: s.n.].

APÊNDICE A – CURVA DE ÁCIDO GÁLICO PARA ANÁLISE DE CFT

Figura 59 - Curva analítica de ácido gálico utilizada no cálculo de CFT dos extratos de *S. rhombifolia* do Capítulo III.



Fonte: O autor

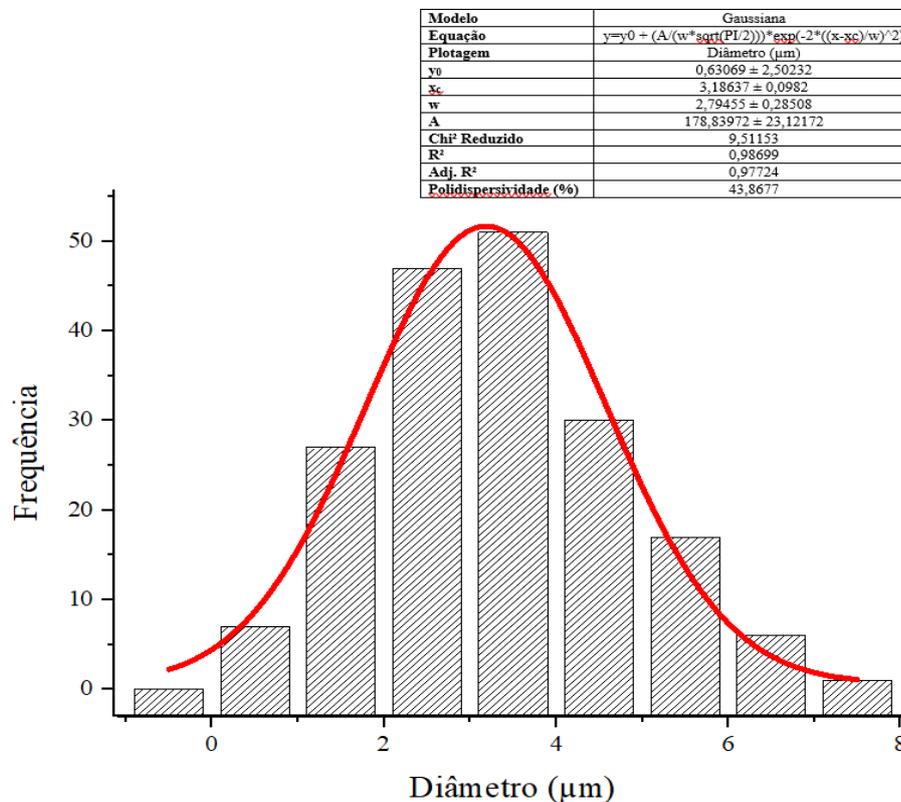
APÊNDICE B – TABELA SUPLEMENTAR DA ANÁLISE HPLC

	Phenolic Compounds	[M-H] (m/z)	Quantitative Ion (m/z)	Retention Time (min)	LOD* (mg L ⁻¹)	LOQ* (mg L ⁻¹)
1	3,4 dihydroxybenzoic ac.	152,921	109	6,3429	0,0216	0,0654
2	4- aminobenzoic ac.	135,995	91,9	10,7456	1,8667	5,6566
3	4-hydroxymethylbenzoic ac.	150,967	107	8,4493	0,0796	0,2411
4	Caffeic ac.	178,927	135	9,2349	0,0385	0,1166
5	Chlorogenic ac.	353,155	191	9,047	0,0130	0,0394
6	Ellagic ac.	300,959	145	11,7219	0,5280	1,6000
7	Ferulic ac.	192,957	134	10,6612	0,0119	0,0362
8	Gallic ac.	168,908	125	3,6016	0,0428	0,1296
9	Methoxyphenylacetic ac.	164,976	121,1	10,2249	0,4135	1,2530
10	p-Coumaric ac.	162,926	119,1	10,2837	0,0242	0,0734
11	Salicylic ac.	136,942	93	10,7456	0,0135	0,0409
12	Sinapic ac.	223,011	164	10,7456	0,0121	0,0367
13	Syringic ac.	196,939	121,1	9,8828	0,0150	0,0455
14	Vanillic ac.	166,923	152	9,8828	0,0440	0,1335
15	Epicatequina	288,954	123	9,15	0,0275	0,0835
16	Hispidulin	298,957	284	12,6341	0,0028	0,0083
17	Isoquercetin	463,155	300	10,8104	1,7023	5,1586
18	Isorientin	446,86	326,9	10,1182	0,1552	0,4703
19	Kaempferol	284,995	65	12,2327	0,0903	0,2735
20	Myricetin	316,995	151	11,1622	0,0633	0,1917
21	Naringenin	270,985	151	12,2637	0,0036	0,0108
22	Quercetin	300,968	151	11,6893	0,1498	0,4541
23	Routine	609,242	301	10,6121	0,0113	0,0343
24	Taxifolin	303,019	125,1	10,5516	0,0227	0,0689
25	Vitexina	430,882	310,9	10,5029	0,0059	0,0179
26	Coniferaldehyde	177,015	162	11,18	0,0089	0,0271
27	Sinapaldehyde	180,94	166	10,6684	0,0588	0,1781
28	Syringaldehyde	207,04	177	11,3399	0,0183	0,0553
29	Vanillin	150,958	136	10,2838	0,0157	0,0477
30	Scopoletin	190,972	176	10,9342	0,0059	0,0178
31	Umbelliferone	160,941	133,1	10,7938	0,0037	0,0112
32	Mandelic ac.	150,875	106,8	7,86	1,1034	3,3437
33	p-Anisic ac.	150,832	105,2	11,34	0,1966	0,5957
34	Rosmarinic ac.	358,995	159,8	10,83	0,0123	0,0373
35	Cinnamic ac.	146,886	100,7	11,8	4,3421	13,1579
36	Apeginin	268,794	114,8	12,62	0,0032	0,0097
37	Aromadendrin	286,824	123,9	11,29	0,0182	0,0552
38	Carnosol	329,008	284	14,32	0,0094	0,0285
39	Catechin	288,853	120,3	8,82	0,0273	0,0828
40	Chrysin	252,87	62,2	13,88	0,0078	0,0236
41	Eriodictyol	286,823	132,1	11,85	0,0025	0,0075
42	Fustin	286,835	105,6	10,32	0,0151	0,0457
43	Galangina	268,811	59,9	13,44	0,0187	0,0566
44	Naringina	579,91	150	11,18	1,7103	5,1829
45	Pinocembrin	254,954	151	13,59	0,0193	0,0586
46	Resveratrol	226,875	181,6	11,14	0,0499	0,1513

*LOD = limite de identificação; LOQ = limite de quantificação

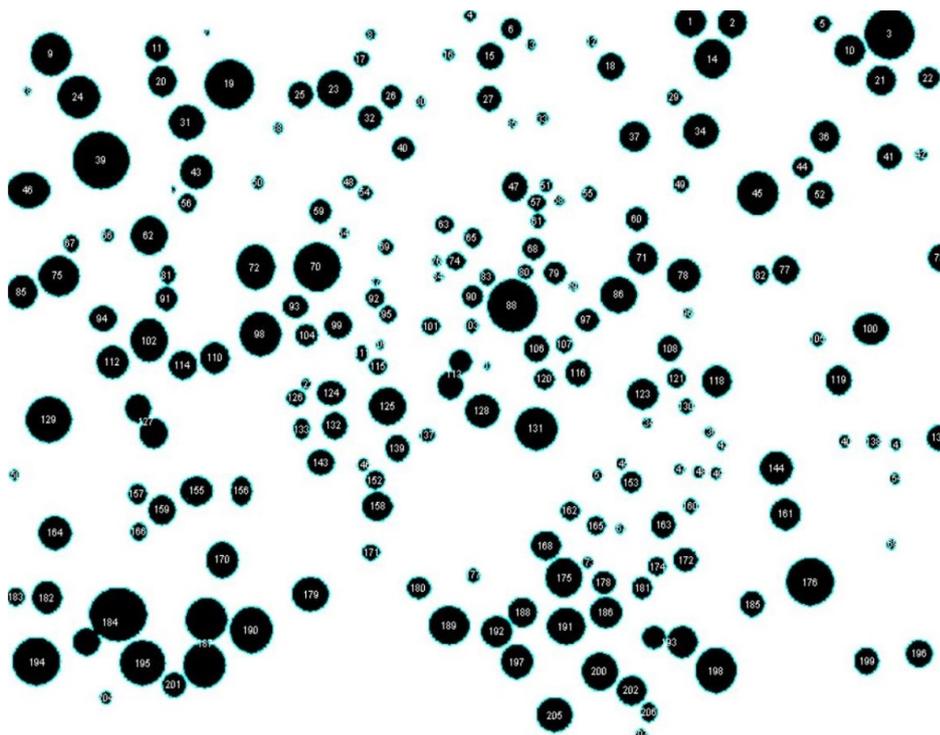
APÊNDICE C – ANÁLISE DIMENSIONAL DE PARTÍCULAS OBTIDAS POR *SPRAY-DRYING*

Figura 60 - Distribuição de diâmetros das partículas obtidas por microencapsulação



Fonte: O autor

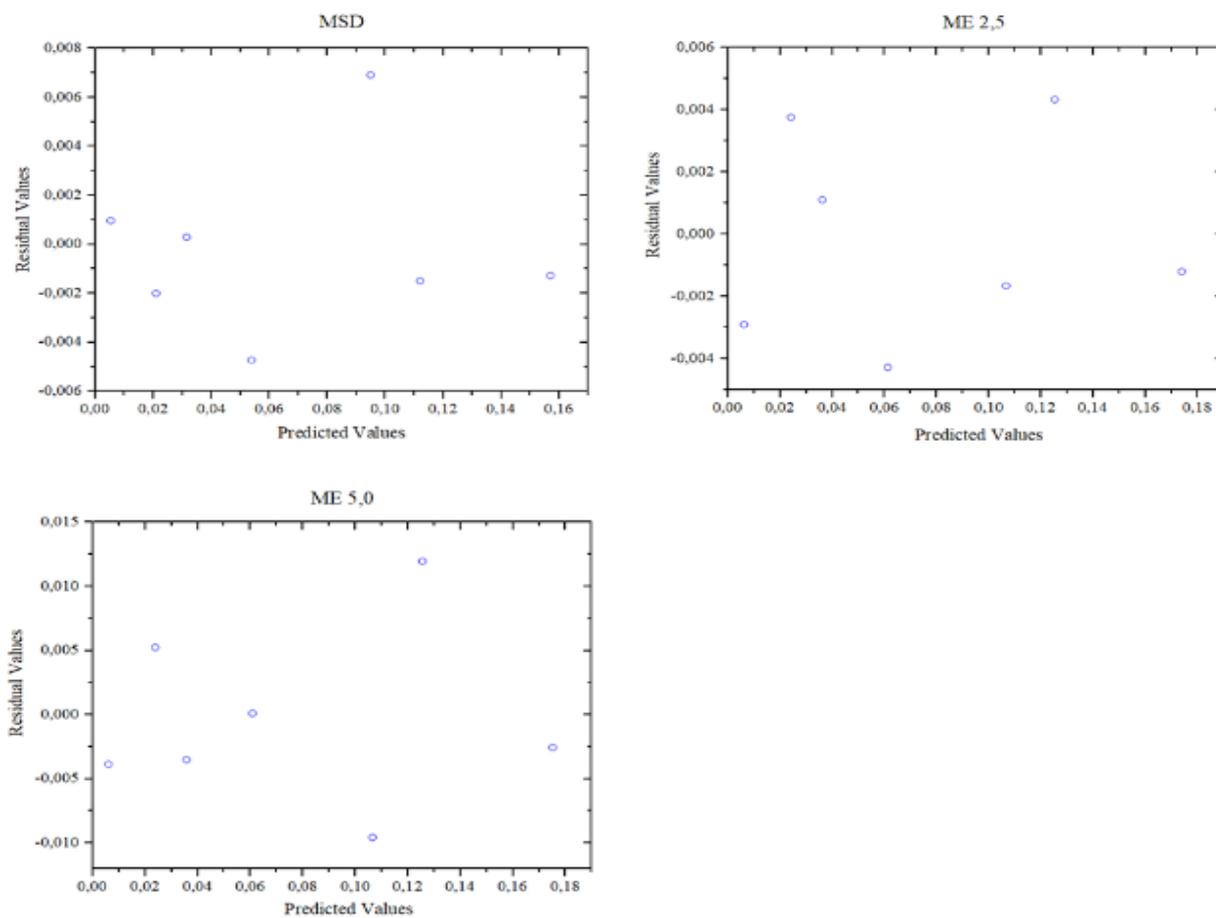
Figura 61 - Partículas numeradas por meio da análise dimensional em software Image-J®



Fonte: O autor

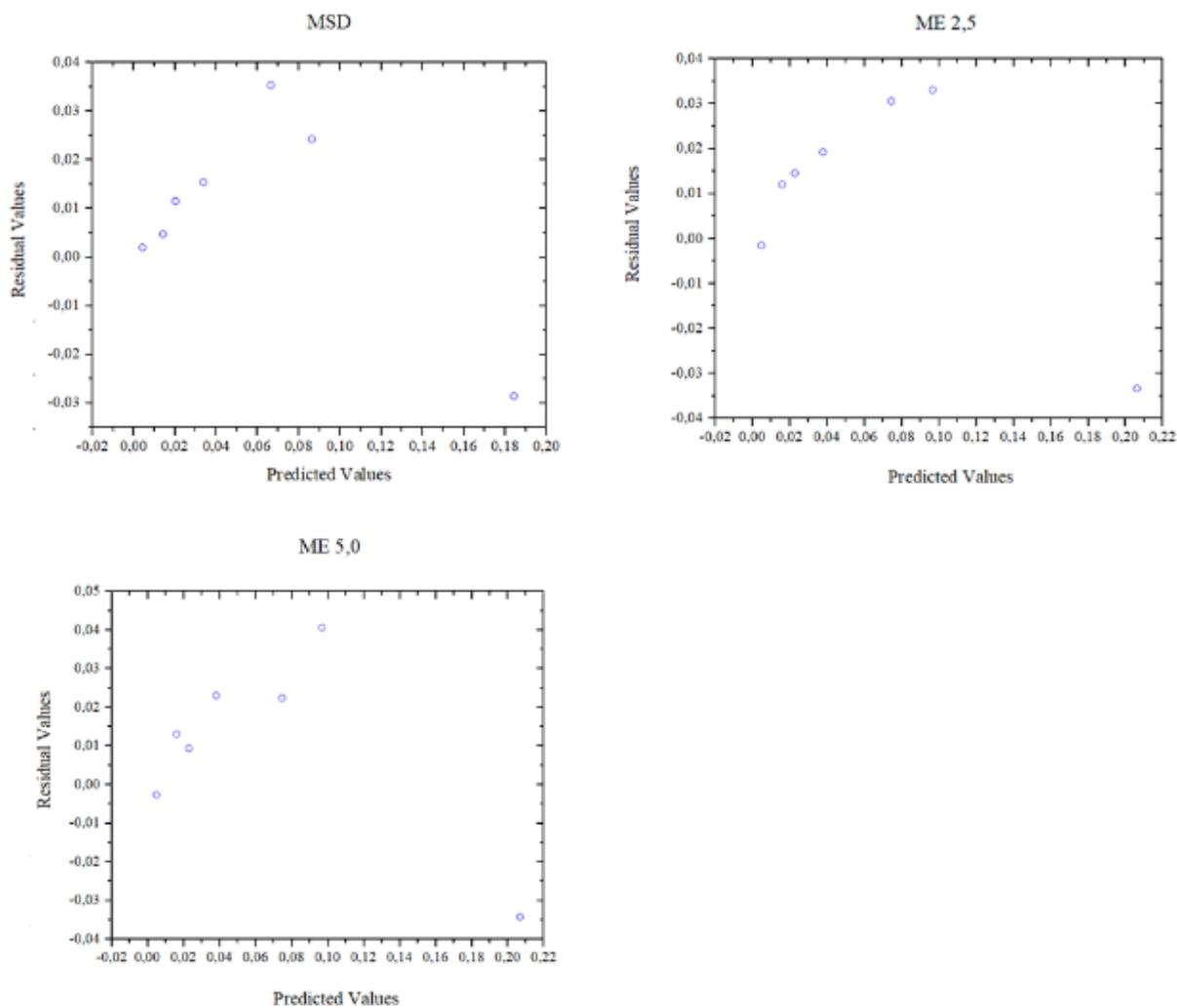
APÊNDICE D – AJUSTE AOS MODELOS MATEMÁTICOS NA AFERIÇÃO DAS ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

Figura 62 - Resíduos do ajuste do modelo de GAB às isotermas de adsorção umidade



Fonte: O autor

Figura 63 - Resíduos do ajuste do modelo de BET às isotermas de adsorção umidade



Fonte: O autor

APÊNDICE E – ARTIGO PUBLICADO

J. of Supercritical Fluids 149 (2019) 10–19



Contents lists available at ScienceDirect

The Journal of Supercritical Fluids

journal homepage: www.elsevier.com/locate/supflu

Integrated extraction approach to increase the recovery of antioxidant compounds from *Sida rhombifolia* leaves



Diego Márlon Ferro^a, Simone Mazzutti^a, Luciano Vitali^b, Carmen Maria Oliveira Müller^c, Sandra Regina Salvador Ferreira^{a,*}

^a Chemical and Food Engineering Department, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, C.P. 476, 88040-900, Brazil

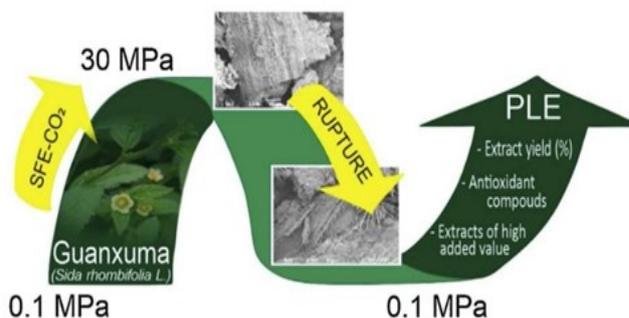
^b Department of Chemistry, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

^c Department of Food Science and Technology, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

HIGHLIGHTS

- Green extraction methods are used to recover bioactive compounds from Guanxuma.
- Integrated approach by combining methods to enhance the phenolics extraction.
- Depressurization step, prior to pressurized liquid extraction, aid the phenolics recovery.
- New phenolic compounds were firstly detected from Guanxuma extracts.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 January 2019

Received in revised form 20 March 2019

Accepted 20 March 2019

Available online 21 March 2019

Keywords:

Supercritical CO₂

PLE

Depressurization rate

Antioxidant activity

ABSTRACT

Integrated downstream processes, combining Supercritical Fluid Extraction (SFE) with Pressurized Liquid Extraction (PLE), were used to recover antioxidants from *Sida rhombifolia* leaves. The SFE depressurization step was evaluated to improve PLE efficiency in the recovery of phenolic compounds. Total phenolic content of the extracts was performed by Folin-Ciocalteu method, and *in vitro* antioxidant activity was obtained by DPPH and ABTS methods, while the cell wall disruption was observed by Scanning Electron Microscopy (SEM) analysis. The highest phenolic content ($91 \pm 0 \text{ mg GAE g}^{-1}$) and antioxidant capacity by ABTS ($4.3 \pm 0.02 \text{ mmol TE g}^{-1}$ extract) was obtained by PLE from the SFE residue after fast depressurization rate. LC-ESI-MS/MS analysis identified 31 phenolic compounds from the extracts, of which 21 were firstly reported for *Sida rhombifolia*. Isoquercetin was the major phenolic in the extracts. The process integration recovered different fractions from *S. rhombifolia* leaves, improving extraction yield and antioxidant potential.

© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Biorefinery can be defined as the sequential process integration for the conversion of biomass (biowastes, microalgae, algae, plants, forest biomass, etc.) into energy and a variety of by-products, mainly biofuels and added-value co-products [1–3]. In Brazil, biorefinery has been essentially tied to biofuel production, where studies

* Corresponding author.

E-mail address: s.ferreira@ufsc.br (S.R.S. Ferreira).