



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Paulo Sergio Nunes Chada

OBTENÇÃO DE LICOPENO DO BAGAÇO DE TOMATE INDUSTRIAL “*Solanum lycopersicum* L.” POR TÉCNICAS NÃO CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO E SECAGEM

Florianópolis

2021

Paulo Sergio Nunes Chada

OBTENÇÃO DE LICOPENO DO BAGAÇO DE TOMATE INDUSTRIAL “*Solanum lycopersicum* L.” POR TÉCNICAS NÃO CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO E SECAGEM

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lanza

Coorientadores: Dr. Luiz Gustavo Gonçalves Rodrigues e Dr. Pedro Henrique Santos

Florianópolis

2021

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

Chada, Paulo Sergio Nunes
Obtenção de licopeno do bagaço de tomate industrial
"Solanum lycopersicum L." por técnicas não convencionais de
extração e secagem. / Paulo Sergio Nunes Chada ;
orientador, Marcelo Lanza, coorientador, Pedro Henrique
Santos, coorientador, Luiz Gustavo Gonçalves Rodrigues,
2021.
113 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Leite de jorro. 3.
Extração assistida com micro-ondas. 4. Extração com líquido
pressurizado. 5. Otimização multiresposta. I. Lanza,
Marcelo. II. Santos, Pedro Henrique. III. Rodrigues, Luiz
Gustavo Gonçalves IV. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos. V. Título.

OBTENÇÃO DE LICOPENO DO BAGAÇO DE TOMATE INDUSTRIAL “*Solanum lycopersicum* L.” POR TÉCNICAS NÃO CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO E SECAGEM

Por

Paulo Sergio Nunes Chada

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

Prof. Dr. Marcelo Lanza - Presidente - UFSC

Prof. Dr. Gilberto Alexandre Soares Goulart - membro externo - UFG

Dra. Kátia Suzana Andrade Banca - membro interno - UFSC

Dissertação julgada para a obtenção do título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof. Dr. Marcelo Lanza
Orientador

Profa. Dra. Sandra Regina
Salvador Ferreira
Coordenadora

Florianópolis, 18 de março de 2021.

Este trabalho é dedicado à minha família, em especial a minha querida mãe e tia, Tânia e Sônia Chada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a todas as divindades que regem este mundo, independente de religião, por estarem sempre comigo e me protegerem em todos os caminhos que percorri.

Agradeço à minha família, em especial a minha mãe, tia e avó; por todo amor, orações, energias positivas e apoio financeiro para a realização deste trabalho.

Agradeço ao meu orientador, Dr. Marcelo Lanza, que desde o primeiro e-mail trocado já demonstrou ser uma grande pessoa, um orientador sempre disposto para ajudar, escutar e encontrar meios de resolver os problemas. Obrigado pela sua atenção, apoio e confiança depositada em mim!

Agradeço aos meus coorientadores, os doutores Luiz Gustavo Rodrigues e Pedro Henrique Santos, por desenvolverem a ideia deste trabalho, em um período desesperador de mudança de tema, metas a serem cumpridas e pandemia. Obrigado por todos os ensinamentos e auxílios durante as análises, pelo apoio e disponibilidade sempre que foi preciso. Muito obrigado por trilharem este caminho comigo, não sei onde estaria sem vocês!

Agradeço ao Prof. Dr. Gilberto Goulart pela obtenção e secagem do bagaço de tomate, uma parceria fundamental para a realização deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcelo Maraschin pelas orientações e pela parceria fundamental para que a determinação de licopeno (CLAE) pudesse ser concretizada.

Agradeço a todos os amigos que fiz no PPGEAL e no LATESC, em especial à Bruna Soares pela sua grande amizade e ajuda durante as análises, à Laís Benvenuti pelos seus ensinamentos e constantes ajudas, e aos amigos Eduardo Leonarski, Juliane da Silveira, Hélia Alves, Mayara Kuasnei, Nathalia Horrana, Anderson Silva, Guilherme Sakata, Guilherme Dallarmi, Aline Elias e Patricia Mesquita; pela amizade e ajuda, seja durante as disciplinas, experimentos ou no dia a dia, muito obrigado!

Agradeço ao meu namorado Alvaro Rodrigues por todo amor, carinho, incentivo, paciência e companheirismo.

Agradeço ao PPGEAL, UFSC e CAPES por toda estrutura, apoio financeiro e condições necessárias para a execução deste trabalho.

Por fim, a todos que contribuíram para que este trabalho fosse executado.

“Enche as tuas mãos com alimentos saudáveis, e elas se esvaziarão de remédios.”

(Claudia Nascimento, 2020).

RESUMO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é um fruto pertencente a família das Solanáceas, podendo ser consumido cru ou processado. É a segunda hortaliça mais consumida no mundo e o Brasil figura como o maior produtor e consumidor de tomate industrial da América Latina. Contém muitos compostos antioxidantes em sua constituição, como os carotenoides (80-90% de licopeno e 7-10% de β -caroteno), flavonoides, fenóis, vitamina C e vitamina E. Entretanto, por ser um fruto com vida-de-prateleira limitada e curto período de produção agrícola, o consumo mais frequente se dá na forma de produtos processados, gerando um subproduto, o bagaço de tomate, composto de peles, sementes e tecidos vasculares, que representam cerca de 4% da massa total do fruto. Com o intuito final de agregar valor a este subproduto oriundo da produção industrial de tomate, o presente trabalho teve por objetivo verificar a eficácia das técnicas não convencionais de secagem (leito de jorro) e de extração (Extração Assistida com Micro-ondas e Extração com Líquido Pressurizado), para a obtenção de extratos do bagaço de tomate industrial ricos em licopeno e capacidade antioxidante. Em todas as técnicas, solventes ambientalmente seguros (GRAS) foram utilizados. As respostas analisadas foram rendimento, atividade antioxidante pelos métodos de DPPH, FRAP e branqueamento do sistema β -caroteno, além da determinação do teor de licopeno por CLAE. Por meio do planejamento Box-Behnken e da função desejabilidade foi obtido que as condições que maximizam a obtenção de extratos com potencial antioxidante por MAE são: temperatura de 90 °C; 90 % de etanol e 10 % de acetato de etila; 3 min de operação. Já para PLE são: temperatura de 90 °C; 50 % de etanol + 50 % de acetato de etila e vazão de 2 mL·min⁻¹. Houve diferença estatística entre as diferentes técnicas de secagem empregadas, as amostras secas em estufa com circulação de ar apresentaram, em média, um maior rendimento de extração, entretanto, menores teores de atividade antioxidante e de licopeno, desta forma, a técnica de secagem em leito de jorro é a mais recomendada para a secagem do bagaço de tomate, uma vez que houve uma maior preservação dos compostos de interesse. Dentre as técnicas de extração utilizadas, os maiores valores de rendimento foram obtidos no Soxhlet. Nessa técnica, a utilização do etanol como solvente de extração resultou em um maior rendimento, e o acetato de etila proporcionou maiores teores de licopeno e maior atividade antioxidante. Cada técnica de extração empregada resultou em extratos com constituições estatisticamente diferentes entre si, sendo os extratos obtidos por PLE os que apresentaram os maiores teores de atividade antioxidante e os extratos obtidos por EAM os que apresentaram os maiores teores de licopeno. O extrato obtido por MAE, previamente seco em leito de jorro foi responsável por obter o maior teor de licopeno deste estudo, 59,66 μg licopeno·g⁻¹ de extrato, o que representa uma taxa de recuperação de licopeno de 66,93%, semelhante aos obtidos por outros autores em outras técnicas de extração, em apenas 3 min de extração, na comparação com o valor de licopeno de referência (89,14 μg licopeno·g⁻¹ de extrato). Dessa forma, o presente estudo contribuiu para demonstrar alternativas viáveis de secagem e de extração de compostos do bagaço de tomate para a obtenção de licopeno de forma segura, mais econômica e mais sustentável.

Palavras-chave: Leito de Jorro. Otimização. Micro-ondas. Extração com Líquido Pressurizado. Compostos bioativos.

ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.), is a fruit belonging to the Solanaceae family and can be eaten raw or processed. It is the second most-consumed vegetable in the world and Brazil figures as the largest producer and consumer of industrial tomatoes in Latin America. It contains many antioxidant compounds in its constitution, such as carotenoids (80-90% lycopene and 7-10% β -carotene), flavonoids, phenols, vitamin C, and vitamin E. However, because it is a fruit with limited shelf life and a short period of agricultural production, the most frequent consumption is in the form of processed products, generating a by-product, the tomato pomace. It consists of skins, seeds, and vascular tissues, which represent about 4% of the total weight of the fruit. In order to add value to this by-product from industrial tomato production, the present work aimed to verify the effectiveness of non-conventional drying (spouted bed) and extraction techniques (Microwave-Assisted Extraction and Pressurized Liquid Extraction), to obtain extracts of tomato pomace rich in lycopene and antioxidant capacity. In all techniques, environmentally safe solvents (GRAS) were used, ensuring a final product free of toxicity. The responses analyzed were yield, antioxidant activity by the methods of DPPH, FRAP, and bleaching of the β -carotene system, in addition to the determination of the lycopene content by HPLC. Through the Box-Behnken planning and the desirability function, it was obtained that the conditions that maximize the obtaining of extracts with antioxidant potential by MAE are: temperature of 90 °C; 90% ethanol and 10% ethyl acetate; 3 min of operation. For PLE they are: temperature of 90 °C; 50% ethanol - 50% ethyl acetate and flow rate of 2 mL.min⁻¹. There was a statistical difference between the different drying techniques employed, the samples dried with air circulation oven shown, on average, a higher extraction yield, however, lower levels of antioxidant and lycopene activity, thus, the drying technique in spouted bed is the most recommended for drying tomato pomace, since there was greater preservation of the compounds of interest. Among the extraction techniques used, it was in Soxhlet that the highest yield values were obtained. In Soxhlet, the use of ethanol as an extraction solvent resulted in a higher yield, and ethyl acetate provided higher levels of lycopene and greater antioxidant activity. Each extraction technique employed resulted in extracts with statistically different constitutions, with extracts obtained by PLE having the highest levels of antioxidant activity and extracts obtained by MAE having the highest levels of lycopene. The extract obtained by MAE, previously dried in spouted bed, was responsible for obtaining the highest lycopene content in this study, 59.66 ug lycopene.g⁻¹ extract, which represents a lycopene recovery rate of 66.93%, similar to those obtained by other authors in other extraction techniques, in just 3 min of extraction, in comparison with the reference lycopene value (89.14 ug lycopene.g⁻¹ extract). In this way, the present study contributed to demonstrate viable alternatives for drying and extracting tomato pomace compounds to obtain lycopene safely, more economically and more sustainably.

Keywords: Spouted Bed. Optimization. Microwave. Pressurized Liquid Extraction. Bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Constituição do Tomate _____	18
Figura 2 - Fluxograma geral do processamento da polpa concentrada de tomate e da geração do bagaço de tomate _____	21
Figura 3 - Estrutura química dos principais carotenoides _____	26
Figura 4 - Estrutura dos isômeros do licopeno _____	27
Figura 5 - Componentes do sistema de CLAE _____	29
Figura 6 - Esquema com as diferentes regiões de um leito de jorro _____	39
Figura 7 - Aparato Soxhlet (LATESC/UFSC) _____	42
Figura 8 - Esquema de funcionamento de um extrator com líquido pressurizado (PLE) _____	46
Figura 9 - Representação dos pontos experimentais e centrais do planejamento composto central (a) e por Box-Behnken (b), com k=3 _____	49
Figura 10 - Representação da rotabilidade do planejamento Box-Behnken com k=3 _____	50
Figura 11 - Desenho esquemático do secador do tipo leito de jorro (LATESP/UFG) _____	57
Figura 12 - Desenho esquemático da unidade PLE (LATESC/UFSC) _____	62
Figura 13 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 12 para o rendimento de extração _____	70
Figura 14 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 13 para a análise de DPPH _____	71
Figura 15 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 14 para a análise de FRAP _____	72
Figura 16 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 15 para a análise de β -Caroteno _____	73
Figura 17 - Gráfico com valores preditos e desejabilidade global do sistema (MAE) _____	75

Figura 18 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 18 para o rendimento de extração	78
Figura 19 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 19 para a análise de DPPH	79
Figura 20 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 20 para a análise de FRAP	80
Figura 21 - Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 21 para a análise de β -Caroteno	81
Figura 22 - Gráfico com valores preditos e desejabilidade global do sistema (PLE)	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção mundial de tomate industrial (estimada para 2020)	20
Tabela 2 - Composição do tomate e seus principais derivados em base úmida	23
Tabela 3 - Composição de umidade, Brix, ácido ascórbico, quercetina, β -caroteno e licopeno em amostras do processo produtivo de polpa de tomate concentrada em base úmida	24
Tabela 4 - Fator de dissipação ($\tan \delta$) de alguns solventes químicos (20 °C e 2,45 GHz)	44
Tabela 5 - Combinações de fatores necessária para realização de um planejamento Box-Behnken para $k=3$	50
Tabela 6 - Literatura disponível sobre extração de licopeno do bagaço de tomate por ESC	53
Tabela 7 - Literatura disponível sobre extração de licopeno do tomate	54-55
Tabela 8 - Delineamento experimental utilizado para a obtenção de extratos do bagaço de tomate seco por leito de jorro no MAE	60
Tabela 9 - Delineamento experimental utilizado para a obtenção de extratos do bagaço de tomate seco por leito de jorro no PLE	63
Tabela 10 - Umidade e diâmetro médio da partícula do bagaço de tomate após a secagem	68
Tabela 11 - Resultados de extração obtidos para o delineamento experimental por MAE	69
Tabela 12 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para o rendimento de extração	70
Tabela 13 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para a análise de DPPH	71
Tabela 14 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para a análise de FRAP	72
Tabela 15 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para a análise de descoloração do β -Caroteno	73
Tabela 16 - Valores preditos pela função desejabilidade e observados no Ponto 4 do delineamento experimental para o MAE	76

Tabela 17 - Resultados de extração obtidos para o delineamento experimental por PLE	76
Tabela 18 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para o rendimento de extração	77
Tabela 19 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para a análise de DPPH	78
Tabela 20 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para a análise de FRAP	79
Tabela 21 - ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para a análise de descoloração do β -Caroteno	80
Tabela 22 - Valores preditos pela função desejabilidade e observados no Ponto 6 do delineamento experimental para o PLE	84
Tabela 23 – Resultados obtidos para as diferentes técnicas de secagem em suas condições otimizadas de extração	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

AOAC – Sigla do inglês para *Association of Official Analytical Chemists*.

A_w – Sigla do inglês para *Water Activity*.

BHA - Butil-hidroxi-anisol.

BHT - Butil-hidroxi-tolueno.

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

DPPH – 2,2-Difenil-1-picril-hidrazil.

EAM – Extração Assistida por Micro-ondas.

EAU - Extração Assistida por Ultrassom.

ELP – Extração com Líquido Pressurizado.

ESC – Extração Supercrítica.

FDA - Sigla em inglês para *Food & Drugs Administration*.

FRAP – Sigla em inglês para *Ferric reducing ability power*.

GRAS - Sigla em inglês para *Generally recognized as safe*.

HPLC – Sigla em inglês para *High-Performance Liquid Chromatography*.

LATESC – Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica.

LATESP - Laboratório de Termofluidodinâmica e Sistemas Particulados.

MAE – Sigla do inglês para *Microwave assisted extraction*.

PCC – Planejamento composto central.

PEAD - Polietileno de Alta Densidade.

PG - Galato de Propila.

PLE – Sigla do inglês para *Pressurized liquid extraction*.

RIT – Resíduo Industrial do Tomate.

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

TBHQ - Terc-butil-hidroquinona.

UFG – Universidade Federal de Goiás.

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina.

WPTC - Sigla em inglês para *World Processing Tomato Concil*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	OBJETIVOS	17
1.1.1	Objetivo geral.....	17
1.1.2	Objetivos específicos	17
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1	TOMATE.....	18
2.1.1	Produção da polpa de tomate concentrada	22
2.1.2	Bagaço de tomate	23
2.1.3	Licopeno	25
2.1.4	Determinação do teor de licopeno	28
2.2	ANTIOXIDANTES	29
2.2.1	Método sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	32
2.2.2	Método de redução do íon férrico (FRAP).....	33
2.2.3	Método de descoloração do sistema β-caroteno.....	34
2.3	SECAGEM	34
2.3.1	Secagem em estufa com circulação forçada de ar.....	35
2.3.2	Secagem em leito de jorro	37
2.4	EXTRAÇÃO.....	40
2.4.1	Extração Soxhlet	41
2.4.2	Extração assistida com micro-ondas (MAE).....	43
2.4.3	Extração com líquido pressurizado (PLE)	45
2.5	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	47
2.5.1	Planejamento Box-Behnken.....	48
2.5.2	Otimização multiresposta	50

2.6	CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE	51
3	MATERIAL E MÉTODOS	56
3.1	OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	56
3.2	SECAGEM DO BAGAÇO DE TOMATE.....	56
3.2.1	Secagem em Leito de Jorro	56
3.2.2	Secagem em Estufa	57
3.3	MOAGEM DA MATÉRIA-PRIMA	58
3.4	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	58
3.4.1	Soxhlet.....	59
3.4.2	Extração Assistida com Micro-ondas (MAE).....	59
3.4.3	Extração com Líquido Pressurizado (PLE)	61
3.5	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO OBTIDO	64
3.5.1	DPPH	64
3.5.2	Método de Redução do Íon Férrico (FRAP).	64
3.5.3	Método de Descoloração do Sistema β-Caroteno	65
3.5.4	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	66
3.5.5	Análise de Variância (ANOVA)	67
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	68
4.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	68
4.2	RESULTADOS DO PLANEJAMENTO BOX-BEHNKEN	68
4.2.1	Resultados do Planejamento Box-Behnken para MAE	68
4.2.2	Resultados do Planejamento Box-Behnken para PLE	76
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS ...	84
5	CONCLUSÃO.....	89
6	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	90
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é um alimento versátil e saudável, podendo ser consumido cru ou processado, entretanto, por ser um fruto com vida-de-prateleira limitada e curto período de produção agrícola, o consumo mais frequente se dá na forma de produtos processados. É a segunda hortaliça mais consumida no mundo, perdendo apenas para a batata, e o Brasil figura como o maior produtor e consumidor de tomate industrial da América Latina, sendo o 8º maior produtor mundial em 2020. O tomate contém muitos compostos antioxidantes em sua constituição, como carotenoides (80-90% de licopeno e 7-10% de β -caroteno), flavonoides, fenóis, ácido ascórbico (vitamina C) e tocoferol (vitamina E). Em geral, os compostos antioxidantes são associados à prevenção de diversas doenças, como alguns tipos de câncer, catarata e doenças cardiovasculares. Assim, esse fruto representa uma importante fonte de compostos bioativos na dieta humana, podendo ser uma considerável fonte de antioxidantes naturais para a indústria de alimentos (FERNANDEZ-GARCIA, 2014; KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012; NAVIGLIO et al., 2008; WPTC, 2020).

Uma quantidade significativa da produção é destinada para o processamento de produtos, como: suco de tomate, concentrados e polpas, molhos prontos, tomates pelados enlatados, purês, ketchup e sopas. Dentre estes, o principal é a polpa de tomate concentrada, que resulta da concentração do suco de tomate após a remoção da pele e sementes, por meio dos processos de despulpamento e refino (KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012). Durante o processamento, é gerado um subproduto, conhecido como bagaço de tomate, composto de peles, sementes e tecidos vasculares, e representa cerca de 4% da massa total do fruto; é rico em nutrientes e pode ser usado como uma fonte potencial de carotenoides, fibras, lipídios e proteínas (DEL VALLE, CAMARA; TORIJA, 2006).

A produção do bagaço de tomate industrial aumenta a cada ano, sendo uma matriz altamente perecível em seu estado fresco pelo seu alto conteúdo de umidade (cerca de 95%). Esse bagaço contém cerca de 70 a 90% de licopeno, sendo 5 vezes superior quando comparado à polpa de tomate. Além disso, estudos vêm mostrando que o licopeno obtido de produtos industrializados à base de tomate, como suco de tomate, polpa, molho, purê e ketchup, os quais são submetidos a tratamentos mecânicos e térmicos, está mais biodisponível que o encontrado em tomates frescos (AL-MUHTASEB et al., 2010;

AMIRI-RIGI, ABBASI; SCANLON, 2016; DEWANTO et al., 2002; NOBRE et al., 2009).

Nas últimas décadas, a substituição de antioxidantes sintéticos por naturais vem crescendo na indústria de alimentos, uma vez que alguns antioxidantes sintéticos já possuem utilização restrita em alguns países e os consumidores estão cada vez mais conscientes dos possíveis efeitos adversos ao organismo humano dos aditivos sintéticos usados na conservação dos alimentos. Os antioxidantes naturais, como o licopeno, permitem que a indústria substitua completamente os sintéticos, desenvolvendo produtos com ingredientes totalmente naturais e seguros, ou podem ser utilizados em conjunto com os sintéticos, reduzindo a concentração dos sintéticos para um limite permitido (AKOH; MIN, 2008; RAMALHO; JORGE, 2006; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015)

Os subprodutos gerados do processamento industrial de tomate são destinados à alimentação animal ou descartados no meio ambiente, entretanto, com o crescimento da produção nas últimas décadas, é comum ocorrer acúmulo nas indústrias e assim, um maior descarte desse subproduto. Dessa forma, visando uma diminuição das perdas econômicas e dos impactos ambientais, diversos estudos têm sido realizados para agregar valor a este tipo de subproduto. Como o bagaço é constituído principalmente por licopeno e este está mais biodisponível, o subproduto gerado do processamento industrial de tomate poderia ser considerado uma fonte viável e de baixo custo para a obtenção de licopeno, um constituinte de grande interesse para a indústria farmacêutica, química e de alimentos (NAVIGLIO et al., 2008).

Assim, visando o aproveitamento do bagaço de tomate, que é altamente perecível em seu estado fresco, a secagem da matéria-prima é uma etapa fundamental do processamento industrial, pois propicia condições favoráveis para o seu armazenamento (evitando o ataque de micro-organismos), facilita o manuseio e reduz os custos de transporte. Existem diversos tipos de secadores disponíveis no mercado para atender a diferentes necessidades de processo, entretanto, normalmente o fator de escolha do secador está mais relacionado com os custos de processo (JANGAM; MUJUMDAR, 2010). Nesse contexto, o secador do tipo leito de jorro é apropriado para a secagem de partículas “grosseiras” e de tamanho não uniforme, como o resíduo da prensagem do tomate (bagaço de tomate); é uma técnica de baixo custo, que promove a movimentação das partículas de forma regular e cíclica, sendo capaz de atingir elevadas taxas de transferência de calor e de massa, o que torna possível a operação com temperaturas mais

elevadas e em menor tempo, possibilitando a secagem de materiais termicamente sensíveis (BEZERRA et al., 2012; MUJUMDAR, 2006).

A extração de compostos bioativos de suas matrizes pode ser influenciada por diversos fatores, como: solvente, temperatura, teor de umidade, tempo, agitação, razão sólido/líquido e pelas características intrínsecas da própria amostra (TSAO; DENG, 2004). Nesse sentido, diversas técnicas podem ser utilizadas para a extração de compostos bioativos, sendo divididas em dois grupos: técnicas convencionais e não convencionais. As técnicas convencionais apresentam baixo custo, entretanto, demandam longo tempo de operação e empregam solventes orgânicos prejudiciais à saúde e ao meio ambiente. Os métodos não convencionais apresentam-se como uma alternativa menos agressiva à saúde e ao meio ambiente, utilizam menor quantidade de solvente, diminuem a degradação da amostra e melhoram a eficiência e a seletividade da extração (DANLAMI et al., 2014). Além disso, para que o extrato possa ser utilizado em produtos alimentícios ou farmacêuticos, deve-se escolher solventes que não apresentem toxicidade e que sejam permitidos em alimentos, como o etanol e o acetato de etila, solventes mundialmente reconhecidos como “verdes” ou GRAS (do inglês, *Generally recognized as safe*) (CAÑADAS et al., 2020; FDA, 2020).

São escassas as informações na literatura científica sobre a secagem e extração de compostos bioativos do bagaço de tomate, portanto, o presente trabalho busca valorizar o bagaço de tomate obtendo extratos com potencial antioxidante, por meio de diferentes métodos de extração, baseados no conceito da tecnologia verde (“green technology”).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Verificar a eficácia das técnicas não convencionais de secagem (leito de jorro) e de extração (Extração Assistida com Micro-ondas e Extração com Líquido Pressurizado), para a obtenção extratos de bagaço de tomate industrial ricos em licopeno e capacidade antioxidante.

1.1.2 Objetivos específicos

- i. Avaliar a influência da secagem do bagaço de tomate industrial por diferentes técnicas (estufa com circulação forçada de ar e leito de jorro);
- ii. Obter extratos do bagaço de tomate industrial por Soxhlet (método convencional), para comparação aos métodos não-convencionais;
- iii. Obter extratos do bagaço de tomate industrial por Extração Assistida com Micro-ondas (MAE);
- iv. Obter extratos do bagaço de tomate industrial por Extração com Líquido Pressurizado (PLE);
- v. Avaliar os extratos obtidos em termos de rendimento global e atividade antioxidante *in vitro*;
- vi. Identificar as condições ótimas para cada técnica de extração por meio do planejamento Box-Behnken e da função desejabilidade;
- vii. Determinar o teor de licopeno dos extratos obtidos nas condições ótimas por meio de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

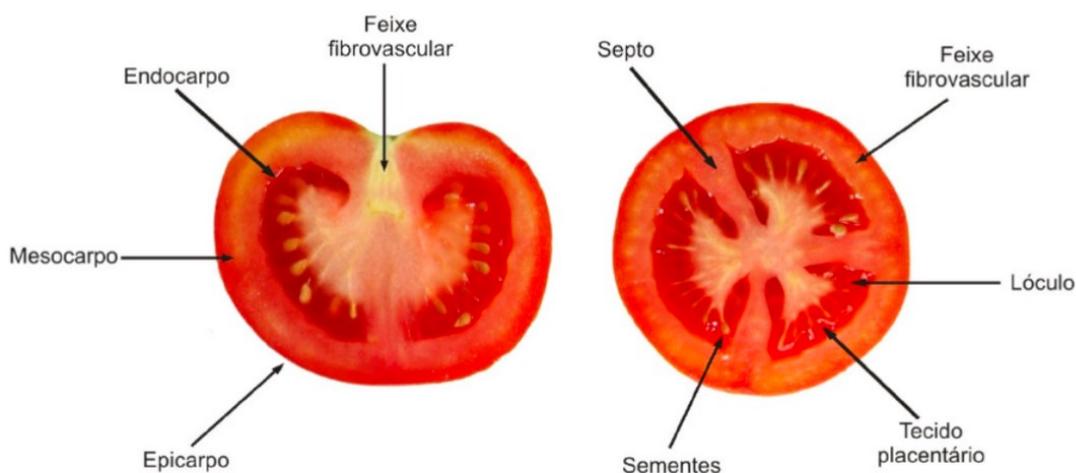
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 TOMATE

O tomateiro é uma planta herbácea pertencente a família das Solanáceas, dicotiledônea da ordem Tubiflorae, gênero *Solanum*. Do tomateiro, é obtido um fruto chamado de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), sendo uma das principais hortaliças cultivadas em países mediterrâneos, podendo ser consumido cru ou processado (KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012). Acredita-se que o tomateiro tenha sua origem no continente americano, mais especificamente nas regiões montanhosas dos Andes. Da América, o tomate teria sido levado à Europa, à Espanha, em meados do século XVI e então para a Itália em 1554, onde uma variedade amarela conhecida como *pomo d'oro* deu origem ao conhecido molho pomodoro. Na França, foi usado como planta ornamental por muito tempo, chamado “*pomme d'amour*” (maçã do amor) (ALVARENGA, 2013).

A estrutura do tomate, descrita na Figura 1, é composta pelo epicarpo (pele) mesocarpo, endocarpo, feixe fibrovascular, septo, lóculo, sementes e tecido placentário (membrana gelatinosa que envolve as sementes) (MINTZ-ORON et al., 2008).

Figura 1 - Constituição do tomate.



Fonte: Ferrari (2008).

A temperatura e a umidade relativa são os dois fatores ambientais mais importantes para o cultivo do tomate. O tomate é uma cultura de estação quente, que requer temperaturas diurnas de 25 a 30 °C e temperaturas noturnas de 16 a 20 °C para

obter um ótimo desenvolvimento. Além disso, requer umidades entre 60 e 80%; fora desta faixa pode ocorrer o desenvolvimento de doenças na planta e o aparecimento de rachaduras nos frutos (CLEMENTE; BOITEUX, 2012). De acordo com as condições ambientais, a produção de tomate no Brasil para o processamento industrial teve início em Pernambuco, no final do século XVIII, e hoje está concentrada nos estados de Goiás (86%) e São Paulo (12,7%) (ALVARENGA, 2013).

A cadeia produtiva do tomate pode ser dividida em tomates destinados ao consumo *in natura* e o destinado ao abastecimento industrial, em que cada uma passa por processos distintos, desde as variedades utilizadas até a forma de cultivo. Desde 1980, houve um grande aumento na demanda de tomate para uso industrial, isto se deu pelo aumento do consumo de alimentos de conveniência (por exemplo, pizzas e molhos prontos) que utilizam pasta de tomate como matéria-prima. Visando atender essa demanda, a indústria de alimentos, em parceria com produtores rurais e institutos de pesquisa, desenvolveu variedades de mudas próprias para o processamento industrial (frutos com maior uniformidade de maturação, firmeza, cor, viscosidade e outros parâmetros mais adequados a este mercado), além disso, o cultivo em larga escala e a utilização do transplante de mudas gerou forte aumento da produtividade média de tomates para processamento (CLEMENTE; BOITEUX, 2012; KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012). Segundo a WPTC (do inglês, *World Processing Tomato Council*), a produção mundial de tomate industrial estimada para 2020 foi de 39,4 milhões de toneladas, sendo o Brasil o 8º maior produtor e o principal da América Latina, entretanto, representando apenas 3% da produção mundial (Tabela 1).

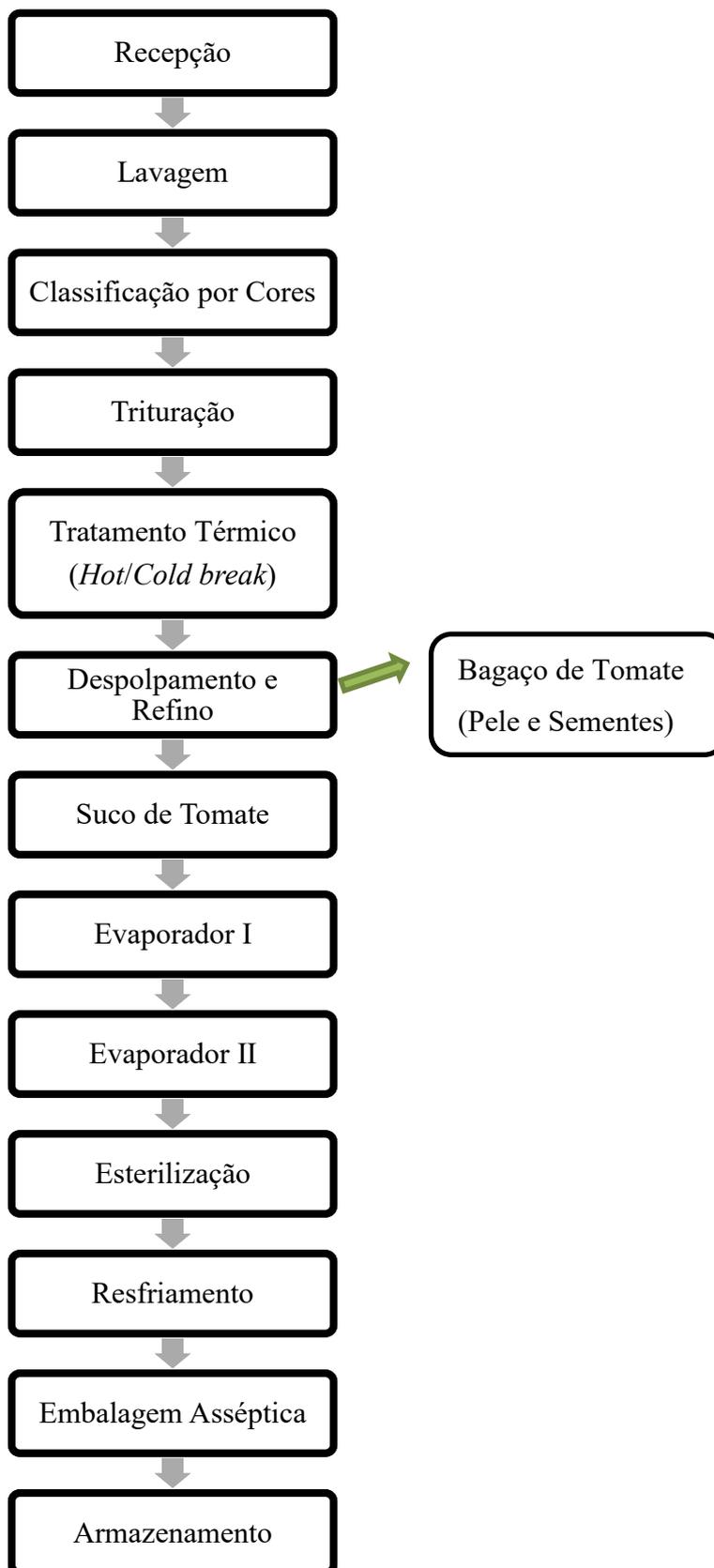
Tabela 1 – Produção mundial de tomate industrial (estimada em 2020)

Colocação	País	Produção (em milhões de toneladas)
1º	Estados Unidos	10.886
2º	China	5.300
3º	Itália	5.000
4º	Espanha	3.100
5º	Turquia	2.200
6º	Irã	1.650
7º	Portugal	1.400
8º	Brasil	1.200
9º	Tunísia	1.000
10º	Argélia	1.000

Fonte: WPTC (2020).

O tomate é um fruto macio que possui uma cutícula quase impermeável a gases e a água, sendo um fruto sensível que requer cuidados em relação ao empilhamento, quedas e outros impactos, para a manutenção de sua qualidade (FERNANDES; CARDOSO; MARTINELLI, 2010). Por ser um fruto com vida-de-prateleira limitada (alto teor de umidade) e período de produção agrícola curto, o consumo mais frequente se dá na forma de produtos processados, que incluem extratos de tomate, suco de tomate, molhos prontos, tomate pelado enlatado, ketchup, dentre outros (CHANFORAN et al., 2012). Logo, o tomate é transformado em polpa de tomate concentrada, como descrito na Figura 2, a qual é reconstituída ao longo do ano, principalmente durante a entressafra, para a fabricação dos produtos à base de tomate. A polpa de tomate concentrada é resultado da concentração do suco de tomate após a remoção da pele e sementes (por meio de peneiras metálicas rotativas), sendo produzida a partir de processos como: tratamento térmico (visa à inativação enzimática), refino, evaporação, esterilização, resfriamento e armazenamento (KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012).

Figura 2 – Fluxograma geral do processamento da polpa concentrada de tomate e da geração do bagaço de tomate.



Fonte: Adaptado de Koh; Charoenprasert; Mitchell, (2012).

2.1.1 Produção da polpa de tomate concentrada

Segundo a ANVISA (BRASIL, 2005), o produto deve conter um teor mínimo de 6% de sólidos solúveis naturais de tomate, podendo ser adicionado sal e ou açúcar. Depois de classificados, lavados e selecionados, os tomates são triturados para possibilitar extração do suco. Em seguida, passam por um tratamento térmico para inativar as enzimas pectinolíticas, poligalacturonase e pectina metilesterase; esse tratamento térmico pode ser realizado por “hot break”, ou seja, utilizando uma temperatura de cerca de 95 °C, inativando as três enzimas e gerando um produto com alta viscosidade, porém, com perdas de cor e aromas. Outro tratamento pode ser realizado por “cold break”, o qual utiliza temperaturas de aproximadamente 65 °C e geram um produto com cor e aromas preservados, entretanto, menos viscoso, devido à ação das enzimas pectinolíticas. Os tomates são então pressionados por peneiras de vários tamanhos, separando a pele e sementes do suco de tomate (etapa de despulpamento e refino); sendo uma etapa crítica para a degradação da vitamina C, uma vez que há uma extensa área de exposição aos íons metálicos presentes nas peneiras e ao oxigênio do ar. O material resultante é evaporado usando evaporadores de múltiplos estágios que variam em perfis de tempo-temperatura dependendo da viscosidade necessária para o produto acabado. A pasta de tomate pode ser produzida para apresentar entre 21% e 37% de sólidos solúveis, dependendo das necessidades de fabricação. Após a evaporação, a pasta é esterilizada (100 °C por 3 a 5 min), resfriada rapidamente e embalada em recipientes assépticos (KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012).

O tomate apresenta um elevado teor de água (95,1%), sendo um vegetal de baixa densidade energética e altamente perecível, mas possui quantidades consideráveis de carboidratos, proteínas, lipídeos e minerais (JORGE et al., 2014). Os derivados industriais do tomate apresentam diferentes composições, resultantes de variações do teor de água, adição de ingredientes e técnicas de processamento. Embora os derivados constituam uma fonte de elevada biodisponibilidade de licopeno, os produtos industrializados apresentam elevadas concentrações de sódio (NaCl), com um teor médio de 907 mg·100 g⁻¹ em ketchups, o que exige moderação em seu consumo (MORITZ; TRAMONTE, 2006). Na Tabela 2 é possível observar a composição do tomate e seus principais derivados de acordo com os dados da TACO (NEPA/UNICAMP, 2011).

Tabela 2 – Composição do tomate e seus principais derivados em base úmida (g·100 g⁻¹).

Composição	Tomate <i>in natura</i>	Extrato	Molho industrializado	Purê
Energia (kcal)	15,00	61,00	38,00	28,00
Teor de água (g)	95,10	79,70	88,10	90,80
Proteínas (g)	1,10	2,40	1,40	1,40
Lipídios (g)	0,20	0,20	0,90	-
Carboidratos (g)	3,10	15,00	7,70	6,90
Fibra alimentar (g)	1,20	2,80	3,10	1,00
Cinzas (g)	0,50	2,80	1,90	1,00

Fonte: TACO (NEPA/UNICAMP, 2011).

2.1.2 Bagaço de tomate

Na América Latina, o Brasil é o maior produtor de tomate para processamentos industriais e também o maior consumidor de seus derivados, resultando na geração de uma grande quantidade de resíduo agroindustrial de tomate (RIT), chamado de bagaço de tomate. O bagaço de tomate é formado por peles, sementes e tecidos vasculares que foram separados na etapa de produção do suco de tomate, representando cerca de 4% da massa total do fruto; é rico em nutrientes e pode ser usado como uma fonte potencial de carotenoides, fibras, lipídios e proteínas (DEL VALLE, CAMARA; TORIJA, 2006).

A produção do bagaço de tomate industrial aumenta a cada ano. Estima-se que a Itália, que é um dos maiores produtores mundiais, produz cerca de 200.000 ton de bagaço de tomate por ano (ZUORRO; FIDALEO; LAVECCHIA, 2011). Sua principal desvantagem é ser uma matriz altamente perecível em seu estado fresco, pelo seu alto conteúdo de umidade (cerca de 95%). Quando exposto ao ar, degrada em cerca de 2 dias, emitindo um odor muito desagradável e fornece local de procriação para uma grande variedade de pragas, que são hospedeiros de muitos organismos causadores de doenças (AL-MUHTASEB et al., 2010).

O bagaço de tomate é destinado principalmente à alimentação animal ou descartado no ambiente. Entretanto, com o crescimento da produção industrial de produtos a base de tomate nas últimas décadas, aliado com o alto custo dos processos de secagem (para aumentar o tempo de vida útil do produto) para uma atividade com baixo retorno econômico (ração animal, por exemplo), é comum ocorrer acúmulo de bagaço nas indústrias e assim, um maior descarte desse subproduto. O descarte desse material gera problemas econômicos, ambientais e de imagem para as indústrias, uma vez que os consumidores estão cada vez mais atentos aos resíduos gerados por processos industriais. Nesse sentido, estudos têm sido realizados visando a utilização de subprodutos de origem

vegetal para a sua inclusão na dieta humana, o que poderia reduzir os custos industriais com o descarte e justificar novos investimentos em equipamentos (LARIO et al., 2004; NAVIGLIO et al., 2008).

Durante o tratamento térmico, o rompimento das membranas e paredes celulares libera o licopeno da porção insolúvel do tomate, solubilizando-o e tornando-o mais biodisponível e acessível para extração. Dessa forma, o bagaço de tomate contém cerca de 70-90% de licopeno, sendo cinco vezes superior quando comparado à polpa de tomate (AMIRI-RIGI, ABBASI; SCANLON, 2016; DEWANTO et al., 2002; KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012; NOBRE et al., 2009). Na Tabela 3, é possível comparar o teor de componentes durante cada etapa do processo produtivo da polpa concentrada de tomate.

Tabela 3 – Composição de umidade, °Brix, teor de ácido ascórbico, quercetina, β -caroteno e licopeno em amostras do processo produtivo de polpa de tomate concentrada em base úmida.

Amostra	Umidade	°Brix	Ácido ascórbico	Quercetina	β -caroteno	Licopeno
Tomate Fresco	94,50	4,90	21,38	2,16	0,28	5,68
Polpa	94,20	5,00	8,33	0,56	0,20	5,87
Suco	95,00	4,80	8,81	2,26	0,18	4,79
Evaporador I	93,30	6,80	12,57	2,02	0,17	4,61
Evaporador II	73,20	25,80	59,00	6,25	0,69	22,23
Polpa Concentrada	73,10	27,50	66,32	9,90	1,00	26,61
Bagaço de Tomate	67,10	5,90	5,27	12,08	1,30	27,67

Onde: Umidade em %; Ácido ascórbico em mg de ácido ascórbico \cdot 100 g⁻¹; Quercetina em mg \cdot 100 g⁻¹; β -caroteno e Licopeno em mg \cdot 100 g⁻¹.

Fonte: Koh; Charoenprasert; Mitchell, (2012).

Os produtos de tomate estão presentes nas mesas de famílias de diversas classes sociais, em todas as regiões do planeta, uma vez que mudanças no estilo de vida geram uma busca por alimentos mais rápidos ou prontos, como o caso dos alimentos de conveniência. O Brasil possui um elevado potencial de se tornar um exportador de polpa de tomate para diversos países consumidores, uma vez que apresenta grandes áreas agrícolas e condições climáticas favoráveis. Este cenário motiva a busca por melhores processos agrícolas, mas também traz a necessidade de buscar melhorias de processo,

principalmente o aproveitamento de subprodutos. Com o aumento dos custos para o descarte em aterros sanitários, além da maior preocupação dos consumidores quanto ao descarte de resíduos agroindustriais, faz-se necessário a utilização deste subproduto. Nesse sentido, a secagem do bagaço de tomate para prolongar o seu tempo útil e evitar o seu descarte é essencial. Entretanto, por ser um processo que gera gasto energético significativo, a sua utilização poderia ser empregada para processos que gerem um maior retorno econômico do que a utilização para alimentação animal. Considerando que o bagaço de tomate é uma fonte de baixo custo que contém cerca de 70-90% de licopeno e este está mais biodisponível, diferentes técnicas de extração de compostos bioativos podem ser empregadas, uma vez que estes compostos são de grande interesse da indústria farmacêutica e de alimentos, além de possuírem um alto valor agregado (AL-MUHTASEB et al., 2010; AMIRI-RIGI, ABBASI; SCANLON, 2016; CLEMENTE; BOITEUX, 2012; KOH; CHAROENPRASERT; MITCHELL, 2012; NAVIGLIO et al., 2008;).

2.1.3 Licopeno

Os compostos bioativos são substâncias que não são essenciais para a saúde, mas que podem melhorá-la quando estão presentes no nosso organismo. Os principais compostos bioativos presentes no tomate são os carotenoides, flavonoides, fenóis, ácido ascórbico (vitamina C) e o tocoferol (vitamina E) (FERNANDEZ-GARCIA, 2014). Dentre estes componentes, o licopeno e o β -caroteno têm a ação antioxidante mais importante (SARKAR; KAUL, 2014).

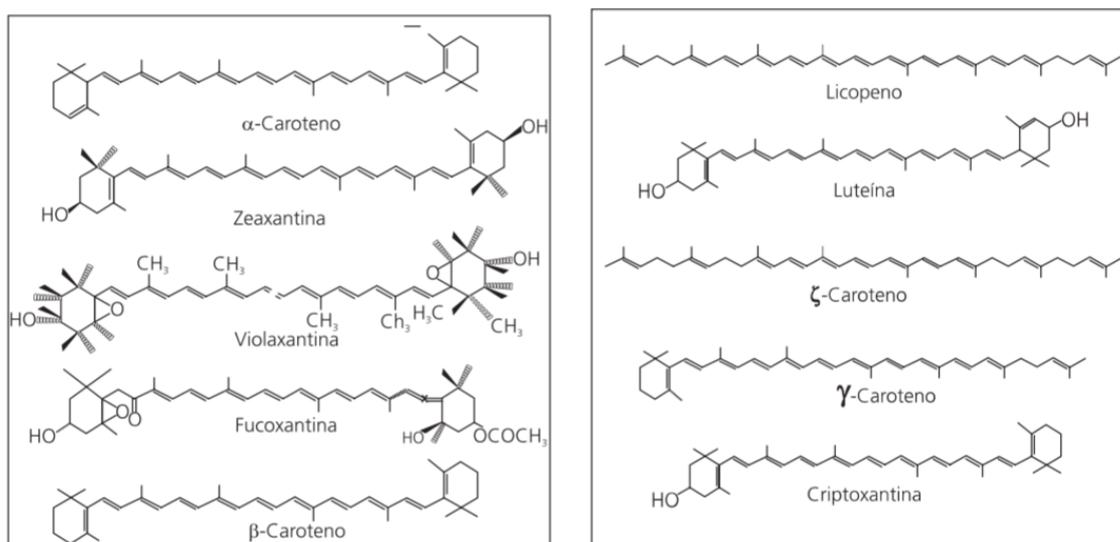
Os carotenoides são compostos que apresentam apenas carbono e hidrogênio em sua estrutura, sendo responsáveis pelas cores de muitos alimentos, variando do amarelo até o vermelho. O licopeno ($C_{40}H_{56}$) pertence ao subgrupo dos carotenoides não oxigenados e é caracterizado por uma estrutura acíclica e simétrica, contendo onze ligações duplas conjugadas e duas ligações duplas não conjugadas (Figura 3). Como todos os carotenoides, o licopeno é apolar, fotossensível e muito susceptível à oxidação e isomerização (AGARWAL; RAO, 2002).

Segundo Di Mascio, Kaiser e Sies (1989), o licopeno não possui a atividade pró-vitamina A, entretanto, a ausência do anel β -ionona, promove a ele maior capacidade de sequestro de radicais livres quando comparado a outros carotenoides como a astaxantina,

a cantaxantina, o alfatocoferol e o β -caroteno, sendo duas vezes melhor que o β -caroteno e dez vezes melhor que o alfatocoferol.

O tomate é a principal fonte de licopeno na dieta humana; sua composição em carotenoides é de cerca de 80-90% de licopeno e 7-10% de β -caroteno. Além disso, resíduos do processamento de tomate também apresentam altos teores de carotenoides, compostos fenólicos e elevada capacidade antioxidante. Os polifenóis presentes no tomate são principalmente ácidos fenólicos, como o ácido gálico e flavonoides, como a rutina e a naringenina (FRUSCIANTE et al., 2007).

Figura 3 – Estrutura química dos principais carotenoides.



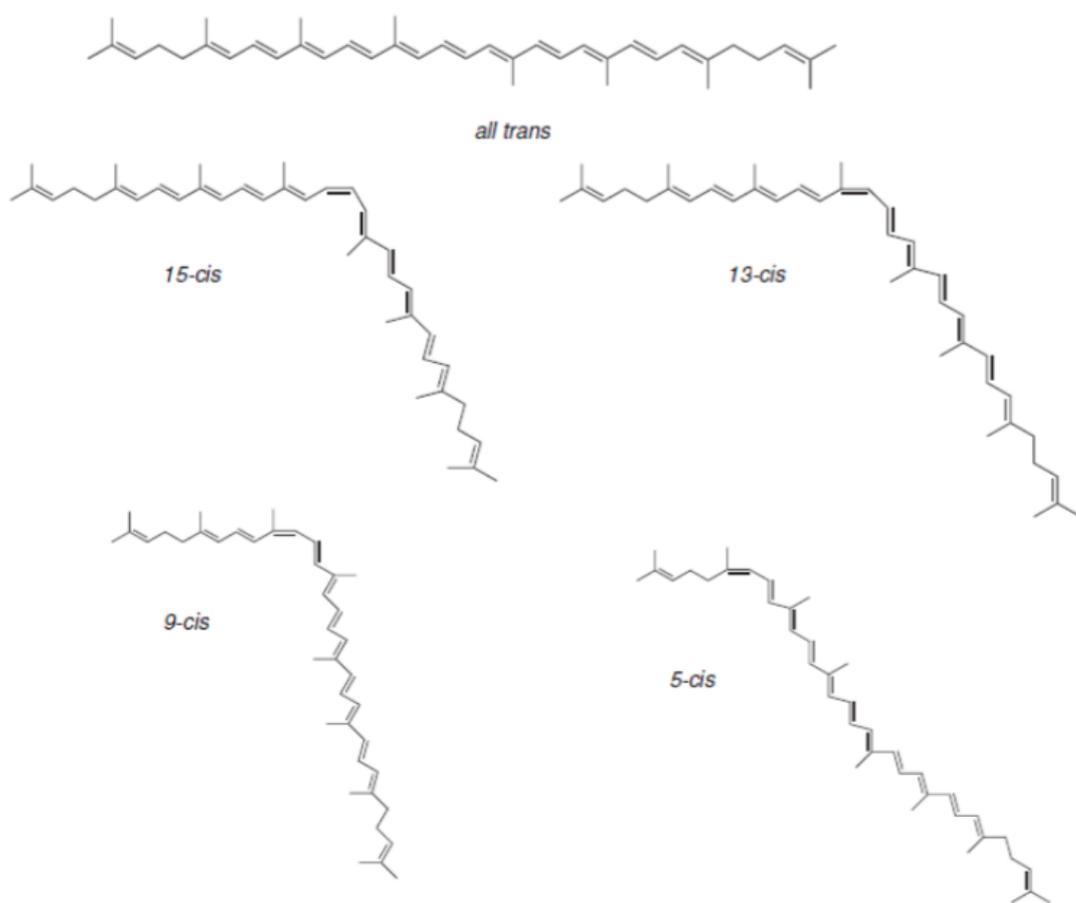
Fonte: Ambrósio; Campos; Faro, (2006).

A propriedade antioxidante e anticancerígena do licopeno é associada à prevenção de diversas doenças, como alguns tipos de câncer (mama, próstata, pâncreas e estômago) catarata e doenças cardiovasculares, fazendo com que a demanda por esta molécula, e para os carotenoides em geral, cresça rapidamente (ARAB; STECK, 2000; CUEVAS-RAMOS et al., 2013; DI MASCIO; KAISER; SIES, 1989; FRANCESCHI et al., (1994); LIVNY et al., 2002; NAVIGLIO et al., 2008; OMONI; ALUKO, 2005).

Em produtos industrializados de tomate e em seu resíduo (bagaço de tomate), é comum o aumento da concentração e da biodisponibilidade do licopeno, sendo ocasionado pelo rompimento das membranas e paredes celulares durante o tratamento térmico e secagem do bagaço, tornando a extração para quantificação mais eficiente do que a extração do licopeno da polpa do fruto *in natura* (DEHGHAN-SHOAR et al., 2011;

SIRIAMORNUN; KAISOON; MEESO, 2012). Outra importante reação envolvendo o licopeno do tomate é a isomerização; originalmente, o licopeno está na forma *trans* e quando ocorre a isomerização, passam para a forma *cis* (pode ocorrer devido ao calor, luz e alguns ácidos orgânicos). A forma *cis* do licopeno apresenta uma coloração vermelha menos intensa, porém é mais facilmente absorvida pelo organismo que a forma *trans* (LAVELLI; TORRESANI, 2011; SIRIAMORNUN; KAISOON; MEESO, 2012). As estruturas dos isômeros do licopeno podem ser observadas na Figura 4.

Figura 4 – Estrutura dos isômeros do licopeno.



Fonte: Agarwal; Rao, (2000).

O licopeno de matérias-primas vegetais é normalmente extraído usando solventes orgânicos como hexano, acetona, clorofórmio, éter de petróleo, tetra-hidrofurano, acetato de etila e etanol. Entretanto, a utilização de solventes orgânicos pode inviabilizar a incorporação do licopeno em produtos alimentícios ou farmacêuticos, uma vez que podem ser tóxicos e que a etapa de evaporação não elimina totalmente o solvente da

matriz, apresentando assim, apenas finalidade analítica (NAVIGLIO et al., 2008). Nesse contexto, estudos vêm demonstrando que o licopeno pode ser extraído usando métodos alternativos de extração, que são métodos capazes de proporcionar uma extração adequada para o uso posterior do licopeno pela indústria de alimentos e farmacêutica, como as extrações com fluido supercrítico, por ação enzimática, por ação de microorganismos, por meio de microemulsão assistida por ultrassom e extração assistida por micro-ondas (AMIRI-RIGI, ABBASI; SCANLON, 2016; LIANFU; ZELONG, 2008; LÓPEZ-NIETO et al., 2004; MACHMUDAH et al., 2012; SILVA et al., 2019; ZUORRO et al., 2013).

2.1.4 Determinação do teor de licopeno

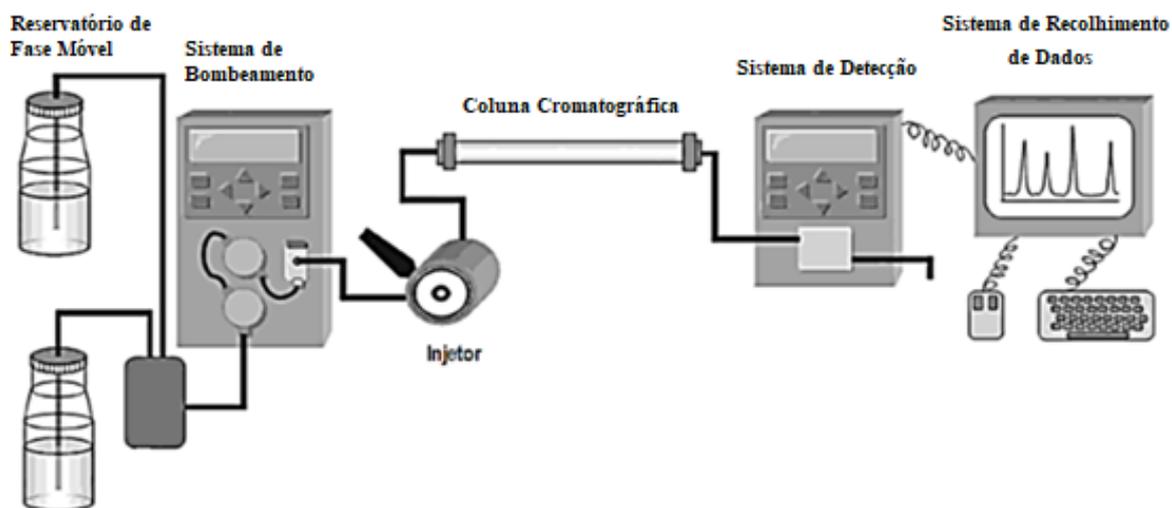
Em geral, os carotenoides são compostos de estrutura complexa e quimicamente muito semelhantes entre si. Além disso, são muito suscetíveis a reações de oxidação e de isomerização, tornando extremamente difícil a análise destas substâncias (DIAS; CAMÕES; OLIVEIRA, 2008). Dessa forma, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou do inglês, *High-Performance Liquid Chromatography* - HPLC) é a técnica mais utilizada para a identificação e quantificação de carotenoides (ARATHI et al., 2015).

A técnica de CLAE consiste em um bombeamento de uma fase móvel líquida (de elevado grau de pureza) por uma coluna cromatográfica (fase estacionária) de forma contínua, sendo inserida a amostra no fluxo de fase móvel por meio de um injetor. Em seguida, ocorre a separação dos componentes da amostra (devido as diferentes interações entre a fase móvel e a fase estacionária), e estes são quantificados por meio de um sistema de detecção, por fim, um sistema recolhe os dados e constrói um cromatograma. A identificação e quantificação dos componentes é realizada por meio da comparação do cromatograma construído, com o de uma solução padrão conhecida (NOLLET; TOLDRÁ, 2012). Um esquema com os componentes do sistema de CLAE pode ser observado na Figura 5.

A técnica de CLAE pode ser realizada em fase normal (fase móvel apolar e a fase estacionária polar) ou em fase reversa (fase móvel polar e fase estacionária apolar). Para a separação de carotenoides, é mais recomendada a fase reversa, pois há um aumento das interações entre o analito de interesse e a fase estacionária, aumentando a resolução do sistema. Para o sistema em fase reversa, a fase estacionária pode ser uma coluna C₁₈ ou C₃₀, sendo a C₁₈ a mais recomendada para carotenoides (com exceção da luteína e da

zeaxantina), uma vez que requer menor tempo de operação e é capaz de obter rendimentos superiores aos obtidos com as colunas C_{30} (GUPTA; SREELAKSHMI; SHARMA, 2015).

Figura 5 – Componentes do sistema de CLAE.



Fonte: Adaptado de Nollet; Toldrá, 2012.

As fases móveis mais utilizadas na análise de carotenoides são o metanol e a acetonitrila; o metanol apresenta maior solubilidade com os carotenoides, tem menor toxicidade, menor custo e é mais disponível, entretanto, a acetonitrila apresenta menor viscosidade e permite um menor ruído na detecção. Visando aumentar a solubilidade dos carotenoides e a resolução do sistema, é possível adicionar pequenas quantidades de modificadores de solventes (modificando a polaridade da fase móvel), como água, hexano, acetona, clorofórmio, acetato de etila, diclorometano, tetra-hidrofurano e o éter metil terc-butilico (MTBE) (AMORIM-CARRILHO et al., 2014).

2.2 ANTIOXIDANTES

Segundo Halliwell e Gutteridge (2007), os antioxidantes são substâncias oriundas do metabolismo secundário das plantas que não possuem funções no crescimento das mesmas, mas que auxiliam em sua relação com o ecossistema, sendo capazes de retardar ou inibir significativamente a oxidação de outros compostos, por meio da reação com os radicais livres.

Os radicais livres são átomos ou moléculas que apresentam um ou mais elétrons não emparelhados em seu orbital atômico, sendo capazes de atrair outras moléculas e classificados como moléculas quimicamente muito reativas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). A grande concentração de radicais livres nas células humanas está associada a doenças como câncer, catarata, doenças cardiovasculares e aterosclerose (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Nesse sentido, os antioxidantes são uma forte defesa tanto na saúde humana quanto nos alimentos, devido a sua habilidade de doar elétrons ou átomos de hidrogênio, inibindo ou retardando a oxidação de outras moléculas, podendo prolongar a vida útil de uma grande variedade de alimentos; porém, não podem eliminar produtos da oxidação que já tiverem sido produzidos (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006).

Desde a antiguidade, o uso de antioxidantes em alimentos é empregado, quando povos do sul e sudeste asiático adicionavam especiarias aos alimentos e observavam um aumento da vida útil e diminuição na ocorrência de deterioração. Com as grandes navegações e o comércio das especiarias, essa prática espalhou-se pela Europa e atualmente, o uso de especiarias com propriedades antioxidantes tornou-se comum na indústria de alimentos, assim como o desenvolvimento e uso de antioxidantes sintéticos (SHAHIDI, 2015).

A oxidação lipídica é uma das principais razões de deterioração de produtos alimentícios durante o processamento e a estocagem, produzindo odores e sabores desagradáveis, diminuindo o tempo de prateleira do produto e resultando em alterações de coloração e textura, além de diminuir o valor nutricional do produto (ALAMED et al., 2009). Uma forma de aumentar o prazo de validade, especialmente de produtos que contenham lipídios, é a adição de antioxidantes, os quais devem apresentar baixo custo, ser atóxicos, eficazes em baixas concentrações e não devendo alterar o *flavor*, a cor e a textura da matriz do alimento (SCHULER, 1990).

Os antioxidantes podem ser de origem sintética ou natural e, para serem utilizados em alimentos, devem ser seguros para a saúde. Em geral, antioxidantes sintéticos são compostos com estrutura fenólica com diferentes graus de substituição do radical alquila, são mais baratos, de fácil obtenção e de qualidade homogênea. Entretanto, apesar de terem sido considerados seguros no passado, alguns antioxidantes sintéticos já possuem utilização restrita em alguns países, devido ao seu potencial cancerígeno. Os antioxidantes naturais podem ser compostos fenólicos (tocoferóis, flavonóides e ácidos

fenólicos), compostos nitrogenados (alcalóides, derivados de clorofila, aminoácidos e aminas) ou carotenoides, assim como o ácido ascórbico (vitamina C) e a vitamina E. A partir do início dos anos 80, a substituição de antioxidantes sintéticos por naturais vem crescendo na indústria de alimentos, uma vez que os apelos não mais se restringem apenas as qualidades sensoriais do alimento, mas também a prevenção de doenças em nível agudo e crônico (BOROSKI et al., 2015; DÉGASPARI; WASZCYNKYJ, 2004; JAYAPRAKASHA; SINGH; SAKARIAH, 2001).

Dentre os antioxidantes sintéticos, o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), galato de propila (PG) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ) são usados como antioxidantes desde o começo do século passado e ainda são os mais utilizados na indústria de alimentos (TAKEMOTO; FILHO; GODOY, 2009). O BHA e o BHT são relativamente estáveis ao calor e por isso são utilizados em alimentos termicamente processados, já o PG se decompõe a cerca de 148 °C, não sendo indicado para alimentos processados a altas temperaturas (SHAHIDI; ZHONG, 2005). O TBHQ é muito resistente ao calor, sendo o mais eficiente para óleos de fritura. De maneira geral, o TBHQ é o mais eficiente para óleos vegetais, e em relação à gordura animal é semelhante ao BHA e superior ao BHT e ao PG (RAMALHO; JORGE, 2006). Entretanto, a carcinogenicidade, formação de lesões no estômago e fígado de camundongos e significativa proliferação do retículo endoplasmático já foram relatados na literatura (BOTTERWECK et al., 2000; HOCMAN, 1981; SIMIÃO, 1985; YILDIRIM; MAVI; KARA, 2001).

Nas últimas décadas a indústria de alimentos vem buscando alternativas para garantir segurança alimentar e atender às exigências dos consumidores preocupados com a saúde e conscientes dos possíveis efeitos dos aditivos sintéticos usados na conservação dos alimentos. Neste contexto, os antioxidantes naturais permitem que a indústria coloque à disposição dos consumidores produtos com ingredientes totalmente naturais, entretanto, esses compostos podem apresentar algumas desvantagens, como: necessidade de altas concentrações, *flavor* indesejável, alterações de cor e baixa estabilidade. O principal ganho é relativo à segurança, que pode ser garantida de maneira menos onerosa do que a de substâncias sintéticas. Assim, o uso de antioxidantes naturais pode ser realizado de maneira a substituírem os sintéticos ou para serem usados em conjunto, reduzindo a concentração necessária de sintéticos (AKOH; MIN, 2008; RAMALHO; JORGE, 2006; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Os antioxidantes naturais estão relacionados a dois grandes grupos: antioxidantes hidrofílicos, que compreendem ácido ascórbico e compostos fenólicos, e antioxidantes lipofílicos, como tocoferóis e carotenoides (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Os tocoferóis representam o maior grupo de antioxidantes naturais em uso na indústria de alimentos, uma vez que são incolores e inodoros, lipossolúveis e atóxicos, porém são mais caros e menos efetivos que os sintéticos (RAMALHO; JORGE, 2006).

O conteúdo de compostos antioxidantes é influenciado pela estrutura química, método de extração empregado, tamanho das partículas da amostra, tempo e condições de armazenamento, presença de substâncias interferentes; como lipídios, terpenos e clorofilas e o método de análise (BARNES et al., 2009). Devido aos diferentes tipos de radicais livres e as suas diferentes formas de atuação, nenhum método é totalmente eficiente, simples e universal para a medição da atividade antioxidante. As metodologias são numerosas e baseadas em diversos fundamentos, portanto, é necessário que seja feita a utilização de duas ou mais técnicas, pois uma técnica empregada isoladamente não irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (ALVES et al., 2010; KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009; SUCUPIRA et al., 2012).

Dentre os métodos *in vitro* para a determinação da atividade antioxidante estão incluídos o DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil), ABTS⁺ (2,2'- Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), TBARS (do inglês, *Thiobarbituric acid reactive substance*), FRAP (do inglês, *Ferric reducing antioxidant power*), ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*), SOD (do inglês, *Free radical scavenging by the superoxyde dismutase*) e método do branqueamento do β -caroteno. Cada método mede a atividade antioxidante espectrofotometricamente em diferentes comprimentos de onda e todos eles têm em comum a presença de um oxidante, um substrato adequado e uma estratégia de medida do ponto final (DUDONNÉ et al., 2009).

2.2.1 Método sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

Dentre as metodologias utilizadas, o método do radical DPPH é o de maior destaque, uma vez que requer apenas um espectrofotômetro UV ou espectrômetro de ressonância paramagnética eletrônica, além de ser rápido, preciso e de fácil replicação, podendo ser utilizado para identificar antioxidantes de caráter hidrofílico (SHAHIDI, 2015). A molécula de DPPH é composta por dois anéis aromáticos de seis membros, contendo átomos de C e H e um anel picril-hidrazila, formado por um anel aromático de

seis membros ligado a três grupos NO_2 e uma hidrazina, em que o átomo de N ligado diretamente ao anel está com um elétron desemparelhado, caracterizando a molécula de DPPH como o um radical livre (BOROSKI et al., 2015).

O radical DPPH possui coloração violeta/púrpura, com absorção máxima na região de 517 nm (515 a 528 nm). Durante a reação de oxirredução entre o radical DPPH e uma espécie antioxidante, o elétron desemparelhado do átomo de N se emparelha com um átomo de H cedido pelo composto antioxidante, o DPPH assume a sua forma reduzida, a hidrazina, resultando em mudança da sua coloração violeta para amarelo pálido. O antioxidante, por outro lado, perde o átomo de H, mas se estabiliza por ressonância (BOROSKI et al., 2015). Essa descoloração atua como um indicador da capacidade antioxidante e pode ser expressa em termos de concentração efetiva (CE_{50} ou EC_{50}), ou seja, a quantidade necessária de antioxidantes na amostra para diminuir a concentração inicial do radical DPPH em 50%. (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

A principal limitação do método do radical DPPH está relacionada com o fato de que alguns compostos absorvem na mesma faixa de comprimento de onda que o DPPH; como as antocianinas, com absorção na faixa de comprimento de onda de 500 a 550 nm e os carotenoides. Nesse sentido, diferentes compostos podem interferir na interpretação dos resultados, logo, é necessário que seja feita a utilização de outras técnicas em conjunto com a técnica do DPPH (SHAHIDI, 2015).

2.2.2 Método de redução do íon férrico (FRAP).

Dentre as metodologias de ação de antioxidantes por complexação com metais, a que utiliza a redução do íon Fe^{3+} para o Fe^{2+} , conhecida como FRAP (sigla do inglês para *Ferric Reducing Ability Power*), é a mais utilizada. Este método é baseado na redução de um complexo férrico incolor (Fe^{3+} -tripiridiltriazina) a um complexo ferroso de cor azul (Fe^{2+} -tripiridiltriazina), com máxima absorção em 593 nm, através da ação de antioxidantes doadores de elétron em um meio acidificado. A redução é monitorada com auxílio de um espectrofotômetro UV (DUDONNÉ et al., 2009). É um método de fácil execução, com resultados confiáveis e em um curto período de tempo, sendo muito utilizado na análise da capacidade antioxidante em plantas e alimentos, especialmente, em conjunto com o método DPPH (MOON; SHIBAMOTO, 2009).

2.2.3 Método de descoloração do sistema β -caroteno

O método de branqueamento do β -caroteno baseia-se na oxidação (descoloração) do β -caroteno, induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoleico. Nesse sistema, o radical livre do ácido linoleico é formado após a abstração de um átomo de hidrogênio de um de seus grupos de metileno dialílico e este, por sua vez, ataca as moléculas de β -caroteno altamente insaturadas. Conforme as moléculas de β -caroteno perdem sua ligação dupla (insaturação), o sistema perde sua cor laranja característica, o que pode ser monitorado com auxílio de um espectrofotômetro na faixa de 470 nm, no tempo 0 min e após 60 min. A presença de um antioxidante pode retardar ou inibir o branqueamento, ao neutralizar o radical livre formado no sistema (MATTHÄUS, 2002). Este método é amplamente utilizado para avaliar a atividade antioxidante de extratos vegetais e sucos de frutas. Entretanto, por utilizar um meio emulsionado, pode ocorrer interferências nas leituras de absorvância, causando baixa reprodutibilidade dos dados (ALVES et al., 2010).

2.3 SECAGEM

Dentre as alternativas de como aproveitar o bagaço de tomate, que é altamente perecível em seu estado fresco, destaca-se a obtenção de um pó estável microbiologicamente, mediante a operação de secagem. Na etapa de secagem, ocorre a diminuição da água disponível para o crescimento microbiano e a inativação de enzimas presentes na matriz, aumentando o tempo de vida útil do produto e diminuindo os custos com transporte (por diminuir o peso e volume), entretanto, pode ocorrer mudanças na textura, escurecimento, oxidação de lipídios, redução de vitaminas lipossolúveis, perda de cor e aromas e diminuição no seu teor de compostos bioativos (AL-MUHTASEB et al. 2010; ANDREO; JORGE, 2006; SINGH; HELDMAN, 2001).

Existem diversos tipos de secadores disponíveis no mercado e cada um atende a diferentes necessidades de processo, que normalmente estão intrinsecamente vinculadas as características do produto. Entretanto, normalmente a escolha está mais relacionada aos fatores econômicos, como: custo de instalação e manutenção, custo energético, facilidade de operação e quantidade de material, de modo que muitas vezes a aplicação de técnicas caras é pouco recomendada para resíduos industriais, uma vez que possuem baixo valor econômico, mesmo que se obtenha um produto de melhor qualidade (JANGAM; MUJUMDAR, 2010). Nesse sentido, o secador do tipo leito de jorro é uma

alternativa de baixo custo (tanto de instalação quanto energético), para pequena escala, que é capaz de produzir material em pó de alta qualidade (BEZERRA et al., 2012).

2.3.1 Secagem em estufa com circulação forçada de ar

A secagem por ar quente é um processo antigo, porém ainda é empregado para a secagem e preservação de alimentos. O método de secagem em estufa por convecção natural ou forçada, é um método direto, onde o ar aquecido absorve uma substância volátil (comumente, mas não exclusivamente, água) presente nos alimentos (RATTI, 2001). Nesse contexto, o secador de bandeja (ou estufa de secagem), é um método muito simples, em que o material é colocado em bandejas ou tabuleiros (geralmente o secador permite de 10 a 20 bandejas), podendo ter fundo inteiriço ou telado. O sistema é hermeticamente fechado e a ventilação forçada suga o ar (passando por um purificador de ar) por meio de uma tubulação de conexão até uma câmara de aquecimento, onde o ar é aquecido até a temperatura desejada (com o auxílio de um termopar). A circulação forçada do ar aquecido através do produto promove uma maximização do arraste da umidade presente no produto, resultando em uma redução de tempo nos processos de secagem (FOUST et al., 1982).

O tempo de secagem pode variar de acordo com a quantidade de água no alimento, quantidade de vapor de água presente no ar, temperatura, composição da matriz, tamanho dos cortes e a quantidade de alimento colocada no secador (FOUST et al., 1982). O longo tempo de secagem e as temperaturas empregadas, quando comparado com outros tipos de secadores, constituem a maior desvantagem do método, uma vez que implica em um maior consumo de energia elétrica e degradação térmica de compostos termossensíveis, entre eles, os compostos bioativos (MONTEVALI; MINAEI; KHOSHTAGAZA, 2011).

Na literatura estão disponíveis diversos estudos visando a secagem do tomate, uma vez que é um produto altamente perecível, em sua grande maioria empregando estufa com circulação forçada de ar e algum método alternativo, entre eles pode-se citar o trabalho desenvolvido por Chang et al. (2006), que comparou as propriedades antioxidantes do tomate fresco, seco em estufa com circulação forçada de ar por 8 h (inicialmente a 80 °C por 2 h e em seguida, 6 h a 60 °C) e o liofilizado. O autor observou que a amostra seca em estufa apresentou maiores teores de licopeno, fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante (por DPPH) que as amostras frescas e as liofilizadas. Entretanto, menores teores de ácido ascórbico, quando comparado com o

tomate fresco e com o liofilizado. O autor afirma que esse comportamento pode ser relacionado com a capacidade das altas temperaturas de secagens, serem capazes de liberar compostos bioativos presentes no interior das células do tomate, assim, a secagem em estufa proporcionou um alimento com maiores propriedades bioativas que a matriz fresca.

Doymaz (2007) estudou o comportamento de secagem de duas amostras de tomate secas em estufa com circulação forçada de ar, uma amostra era chamada de controle (sendo apenas o tomate fresco) e a segunda passou por um pré-tratamento alcalino para avaliar o aumento da taxa de secagem. As amostras foram secas a 50, 60, 65 e 70 °C, sendo observada uma redução de 94,5% para 11% no teor de umidade, com duração de 35,5 h e 24 h (na temperatura mais baixa e mais alta, respectivamente) nas amostras frescas e de 32,5 h e 21 h (na temperatura mais baixa e mais alta, respectivamente) para as amostras tratadas com a solução alcalina. O autor observou que a temperatura de secagem de 70 °C era a mais recomendada para o processo, uma vez que apresentou o maior coeficiente de difusividade.

Demiray; Tulek; Yilmaz (2013), ao estudarem a cinética de degradação do licopeno, β -caroteno e ácido ascórbico em tomates secos em estufa com circulação forçada de ar, a 60, 70, 80, 90 e 100 °C, observaram uma redução no tempo de secagem de 20 para 8 h com o aumento de temperatura (o ponto de parada da secagem era quando a umidade do material atingisse níveis inferiores a 15%). Os autores relataram que o ácido ascórbico era mais susceptível à degradação do que o β -caroteno e o licopeno, e concluíram que o tomate não deve ser seco em temperaturas acima de 70 °C, para evitar degradação excessiva de compostos termossensíveis.

Tan et al. (2020) ao estudarem o conteúdo de licopeno, polifenóis totais e atividade antioxidante de tomates desidratados por estufa com circulação forçada de ar (70 °C por 12 h) e por liofilização, observaram uma redução no teor de umidade de 94% da amostra fresca para 11% (estufa) e 10% (liofilizado). Os autores relataram que os tomates secos em estufa apresentaram maiores teores de licopeno e não apresentaram diferenças significativas para a atividade antioxidante, em relação ao tomate liofilizado. Entretanto, o tomate liofilizado apresentou maiores teores de polifenóis totais. Os autores concluíram que para a obtenção de tomate seco, com maiores teores de compostos bioativos, o processo de secagem em estufa é mais recomendado do que a liofilização.

Visando o aproveitamento do bagaço do tomate, Nour, Ionica e Trandafir (2015) secaram o bagaço em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C e observaram uma redução de umidade de 70% para 12% (ponto de parada da secagem), em seguida adicionaram-no na produção de pães, como forma de inserir licopeno e outros compostos bioativos na dieta da população. Nesse contexto, Badaoui et al. (2018) desenvolveram um método alternativo e natural utilizando apenas a luz solar. Os autores secaram o bagaço de tomate em uma estufa solar e observaram uma redução do teor de umidade de 88,5% para 10% em apenas 5 h de secagem, alcançando uma temperatura de aproximadamente 60 °C. Os autores relatam a necessidade de utilizar fontes renováveis de energia na indústria de alimentos e desenvolveram uma estufa solar, de modo que a secagem fosse mais eficiente que uma secagem ao sol comum. Nesse sentido, os autores atingiram o seu objetivo e contribuíram para a diminuição dos impactos ambientais da indústria de alimentos.

2.3.2 Secagem em leito de jorro

Dentre os secadores convectivos empregados em operações de secagem, encontra-se o secador do tipo leito de jorro. Desenvolvido em 1954 por Mathur e Gishler, como uma alternativa ao secador do tipo leito fluidizado, ganhou destaque, uma vez que servia aos mesmos propósitos do leito fluidizado e solucionava a principal desvantagem do mesmo: a necessidade de o material ser formado por partículas finas. Neste novo método, era possível empregar materiais com partículas grosserias e operar com vazões de fluido (ar) em maiores temperaturas, sem danificar o grão. Em 1963 surge a primeira unidade industrial, implantada no Canadá, para a secagem em leito de jorro de grãos de trigo, ervilha, lentilha e semente de milho. O interesse pela técnica se difundiu pelo mundo e a utilização evoluiu para outras aplicações, como a secagem de pastas e suspensões, evaporação de soluções, mistura de sólidos, granulação e operações de revestimento, tanto na indústria de alimentos quanto na farmacêutica (EPSTEIN; GRACE, 2011).

Trata-se de um equipamento que promove grande interação entre o fluido (ar) e as partículas sólidas que se deseja secar. Na base do leito está localizado um pequeno orifício pelo qual o fluido é injetado e quando a vazão do fluido é suficientemente alta, ocorre a formação de um fluxo ascendente de partículas por um canal central (denominada de região do jorro). Estas partículas, após atingirem a superfície do leito formam a região de fonte e posteriormente deslocam-se para a periferia do mesmo,

incorporando-se à região anular, que compreende o espaço entre o limite da região central e a parede do leito. Ao caírem dentro da região anular, as partículas movem-se lentamente em sentido contrário ao fluxo do canal até que, chegando à base do leito ocorre o reencontro destas com o fluxo do fluido, desenvolvendo um movimento contínuo das partículas (EPSTEIN; GRACE, 2011). Para eliminar zonas estagnadas, a parte inferior do leito é composta por uma base cônica divergente e a superior é constituída por uma coluna cilíndrica (MUJUMDAR, 2006). As três regiões distintas do jorro podem ser observadas na Figura 6.

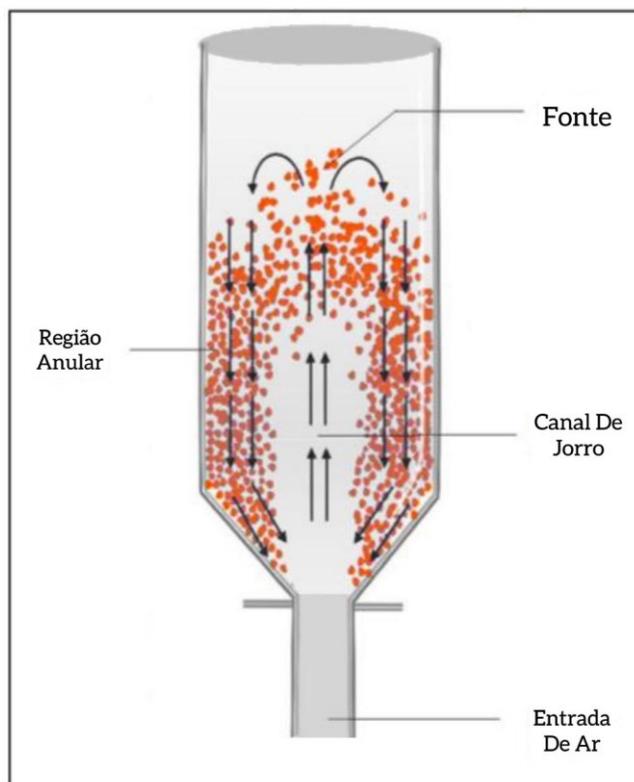
A secagem de soluções ou suspensões (pastas), em leito de jorro ocorre, necessariamente, na presença de partículas inertes. Este material pode agir tanto como um suporte para as pastas, como uma fonte de calor para a secagem. Podem ser de poliestireno, vidro, óxido de alumínio, agalite, borracha de sílica, permulite, óxido de zircônio, polietileno e polipropileno, sendo escolhidas de acordo com a sua resistência térmica (PASSOS et al., 1997).

A secagem de pastas inicia com a alimentação do material ao leito, podendo ser pelo topo, lateral ou base do leito; por nebulização ou por gotejamento da amostra. Em seguida observa-se o espalhamento do material sobre a superfície das partículas inertes, formando uma fina camada de material sobre as mesmas. No decorrer da movimentação cíclica das partículas no interior do leito, o material é seco devido à transferência de calor da própria partícula (condução) e convectivamente a partir do ar quente que entra no leito, esse funcionamento propicia um maior contato entre o ar e as partículas, proporcionando maiores taxas de transferência de calor e de massa. Por fim, após atingir um certo grau de umidade residual, determinado pelas propriedades mecânicas da pasta, e devido a ocorrência de colisões entre as partículas, o filme seco formado é removido da superfície inerte e transportado pelo ar para fora da câmara de secagem, sendo posteriormente coletado por um equipamento de separação, o ciclone (PASSOS et al., 1997; ROCHA; DONIDA; MARQUES, 2009; SPITZNER NETO; CUNHA; FREIRE, 2002).

A secagem de pastas ocorre principalmente a taxa constante, portanto, a evaporação é a etapa limitante do processo, uma vez que pastas possuem um elevado teor de umidade (SPITZNER NETO; CUNHA; FREIRE, 2002). O tempo necessário para um ciclo completo pode depender da temperatura do ar, vazão de entrada do ar e de alimentação da amostra, massa de partículas inertes e as características físicas da pasta,

como os parâmetros de molhabilidade, adesão e friabilidade (PASSOS; MUJUMDAR, 2000).

Figura 6 – Esquema com as diferentes regiões de um leito de jorro.



Fonte: Adaptado de Nascimento (2014).

Como principais vantagens desse método, pode-se citar o movimento cíclico das partículas, resultando em alta mistura do material; maior contato do ar com o sólido, resultando em alta taxa de transferência de calor e de massa; operações contínuas, semi-contínuas e em batelada; equipamento de baixo custo e facilmente operável; curto período de residência do produto no leito; fácil ajuste de temperatura e possibilidade de secagem de material termicamente sensível. Como desvantagens, pode-se citar a instabilidade do jorro, depósito de pó dentro da coluna, vazão de alimentação limitada e a difícil ampliação de escala (“scale up”), uma vez que ao ampliar a altura atingida pelo jorro, ocorre o aparecimento de zonas mortas, prejudicando o movimento cíclico das partículas (MUJUMDAR, 2006).

São escassas as informações na literatura sobre secagem de tomate e de seus derivados em leito de jorro. Nesse sentido, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Pallai-Varsányi, Tóth e Gyenis (2007) que secaram uma polpa concentrada de tomate em

leito de jorro, com partículas inertes, a 65 °C. Os autores observaram uma redução no teor de umidade de 74,1% da amostra fresca para 5,1% em seu pó seco, além disso, relataram uma redução de apenas 8% no teor de ácido ascórbico do produto. Segundo os autores, essa escassez de estudos de secagem de tomate em leito de jorro está relacionada com a natureza termoplástica do tomate (semelhante a várias outras frutas que contenham alto teor de carboidratos e baixo ponto de fusão, como a maçã e a laranja), uma vez que essa natureza termoplástica torna a operação de secagem bastante problemática, pois a matriz se torna pegajosa e se adere com facilidade ao equipamento, diminuindo o rendimento do processo.

2.4 EXTRAÇÃO

A extração é uma operação unitária de extrema importância para o estudo dos antioxidantes naturais, possuindo a finalidade de separar determinadas substâncias de diversas matrizes sólidas ou líquidas. Esta etapa pode ser influenciada principalmente pelo solvente, temperatura, tempo, agitação, razão sólido/líquido, pH, pressão, estrutura molecular da amostra, tamanho das partículas, localização no interior da célula e ligação com outros componentes da matriz; entretanto, as características intrínsecas de cada produto asseguram que cada sistema se comporte de maneira particular, o qual não pode ser previsto facilmente (TSAO; DENG, 2004).

Em matrizes vegetais, as técnicas de extração podem ser classificadas como convencionais e não convencionais. As técnicas convencionais apresentam baixo custo e baixa seletividade de extração, além disso, demandam longo tempo de operação e empregam calor, agitação e solventes orgânicos prejudiciais à saúde e ao meio ambiente, como o Soxhlet. Os métodos não convencionais apresentam-se como uma alternativa menos agressiva ambientalmente, utilizam menor quantidade de solventes, diminuem a degradação da amostra, melhoram a eficiência de extração e a seletividade; podendo ser técnicas utilizando líquidos pressurizados, líquidos iônicos, solventes eutéticos, ultrassom, enzimas, pulso elétrico e micro-ondas (DANLAMI et al., 2014).

Para a extração de compostos hidrossolúveis, como os flavonoides e antocianinas, os solventes mais utilizados são polares e de média polaridade, tais como água, metanol, etanol, propanol, acetona e suas misturas aquosas. Já para os compostos lipossolúveis, como os carotenoides, são usados o hexano, acetona, metanol, etanol, etil acetato, ou misturas entre os mesmos (XU et al., 2017). Segundo Pandya et al. (2017), o licopeno

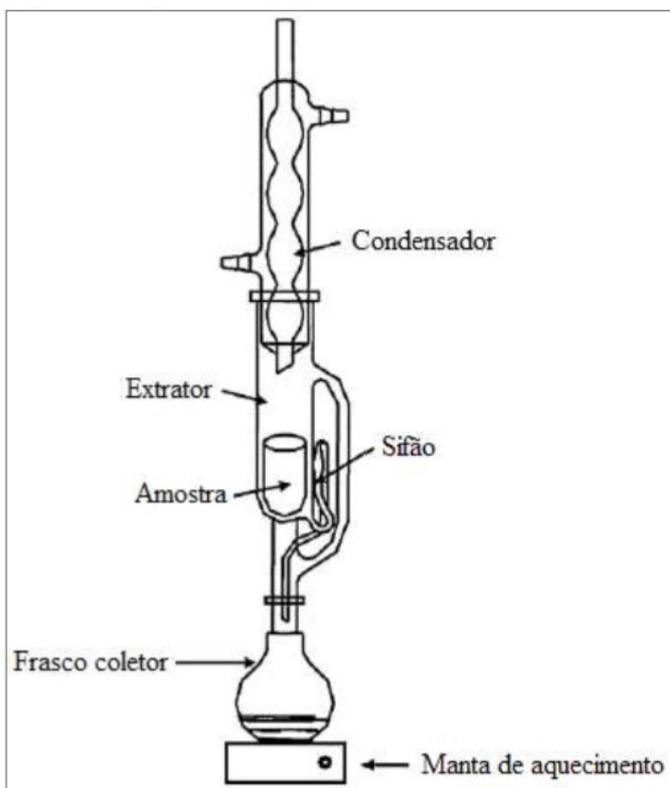
apresenta baixa solubilidade em solventes muito apolares como hexano e éter de petróleo, além disso, apresenta maior solubilidade em misturas de etanol e acetato de etila. Nesse contexto, para que o extrato possa ser utilizado em produtos alimentícios ou farmacêuticos, deve-se escolher um solvente que não apresente toxicidade e que seja permitido em alimentos, uma vez que a etapa de evaporação pode não eliminar totalmente o solvente da matriz (CAÑADAS et al., 2020). Segundo o FDA (2020), o etanol e acetato de etila, utilizados neste trabalho, podem ser classificados como solventes “verdes” ou GRAS (do inglês, *Generally Recognized as Safe*), ou seja, são permitidos em alimentos.

2.4.1 Extração Soxhlet

A extração Soxhlet foi originalmente desenvolvida por Franz Ritter Von Soxhlet em 1879 para a determinação de gordura em leite. Por cerca de um século foi a técnica mais utilizada, permanecendo hoje como referência para comparação com outros métodos. É uma técnica que ocorre a pressão ambiente, sendo influenciada principalmente pelo solvente utilizado, tempo de processo e pela umidade da amostra, uma vez que a umidade pode interferir diretamente no contato do analito com o solvente. Comparada com outros métodos, é uma técnica que fornece uma maior quantidade de óleo porém, na maioria dos casos, métodos alternativos fornecem um óleo de melhor qualidade, ou seja, com maior capacidade bioativa (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

O processo ocorre da seguinte maneira: a amostra seca é adicionada a um cartucho e acoplada ao extrator. O solvente, em quantidade pré-determinada, é inserido no frasco coletor e por meio do aquecimento promovido pela manta entra em ebulição e ascende em direção ao condensador. Ao chegar ao condensador por onde circula um líquido a baixa temperatura, o vapor de 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, o solvente (carregado com compostos de interesse) é direcionado para o frasco coletor e assim o processo se reinicia (DANLAMI et al., 2014). O aparato Soxhlet pode ser observado na Figura 7.

Figura 7 – Aparato Soxhlet.



Fonte: Adaptado de Danlami et al. (2014).

Apresenta como vantagens o baixo custo de aquisição do aparato e de processo, facilidade de operação, elevado rendimento de extração e a supressão da etapa de filtração, uma vez que a amostra está dentro de um cartucho e não se encontra em contato direto com o solvente. Em contrapartida, demanda um longo tempo de operação, utiliza grande volume de solventes orgânicos, os quais são associados a problemas de saúde e ao meio ambiente, além de empregar altas temperaturas que podem degradar os compostos bioativos de interesse, uma vez que o material extraído permanece em contato direto com o solvente em ebulição durante todo o procedimento (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

São escassas as informações na literatura sobre a extração de licopeno do bagaço de tomate por meio da técnica de Soxhlet. Nesse sentido, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Vági et al. (2007), que ao estudarem a extração de compostos bioativos do bagaço de tomate por Soxhlet e ESC, observaram que a técnica de Soxhlet empregando etanol como solvente, apresentou um maior rendimento global de extração que ESC e Soxhlet empregando hexano como solvente. Entretanto, os maiores teores de recuperação de licopeno foram obtidos por ESC e Soxhlet empregando hexano, respectivamente. Os

autores concluem que uma maior quantidade de carotenoides pode ser extraída utilizando etanol, entretanto, o licopeno pode ser mais facilmente extraído ao utilizar a técnica de ESC.

2.4.2 Extração assistida com micro-ondas (MAE)

A extração assistida por micro-ondas (MAE), ou do inglês *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) foi originalmente desenvolvida por Abu-Samra e colaboradores em 1975, inicialmente com o objetivo de desenvolver uma queima úmida para a análise de cinzas (ABU-SAMRA et al., 1975). Essa técnica é baseada na influência da radiação sobre a matéria, gerando calor, que diferentemente do aquecimento condutivo, aquece todo o volume de amostra instantaneamente e sem dissipar calor para o ambiente externo. As radiações eletromagnéticas por micro-ondas são radiações não ionizantes de frequência entre 300 MHz e 300 GHz, sendo comum que aparelhos de micro-ondas domésticos e de pesquisa operem a 2,5 GHz (ZHANG; YANG; WANG, 2011).

O calor gerado na matriz pelas micro-ondas ocorre por meio dos fenômenos de condução iônica e de rotação de dipolo. A condução iônica refere-se à migração eletroforética induzida dos portadores de carga (por exemplo, íons e elétrons) presentes na matriz em direção ao campo elétrico da onda. Essa migração gera um “atrito” entre os íons em movimento e o meio, gerando calor. O segundo princípio, a rotação dipolar, ocorre quando as moléculas polares que apresentam momentos dipolares diferentes de zero tentam se alinhar com o campo elétrico alternado produzido por micro-ondas, o grande número de colisões entre elas e as moléculas vizinhas produz “atrito”, gerando calor (ZHANG; YANG; WANG, 2011).

A extração pode ocorrer com ou sem a presença de solventes. Quando se emprega solventes (matriz seca), deve-se escolher solventes que, além de serem capazes de solubilizar o composto de interesse possuam dipolos permanentes, uma vez que a eficiência da técnica está diretamente relacionada com o fator de dissipação do solvente ($\tan \delta$), sendo uma técnica mais empregada para a extração de compostos bioativos. Outra forma de extração se dá ao utilizar apenas a água presente no interior da matriz, a qual se comporta como o solvente da extração e é geralmente empregada para extrair compostos voláteis, como óleos essenciais (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

Segundo Kappe, Dallinger e Murphree (2009), a eficiência com que diferentes solventes são aquecidos pelas micro-ondas depende do valor do fator de dissipação ($\tan \delta$), ou seja, a capacidade do solvente de absorver a energia de micro-ondas e transmiti-la em forma de calor para a matriz. Nesse contexto, os solventes podem ser classificados como de alta, média e baixa absorção como base no valor do seu fator de dissipação (Equação 1). A Tabela 4 apresenta o fator de dissipação de alguns solventes químicos empregados em extrações.

$$\tan \delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon} \quad (1)$$

Onde: ε'' é a perda dielétrica relativa, que representa a eficiência do material/solvente na conversão da energia de micro-ondas em calor, ε é a constante dielétrica relativa que mensura a habilidade do material/solvente em absorver a energia de micro-ondas.

Tabela 4 - Fator de dissipação ($\tan \delta$) de alguns solventes químicos (20 °C e 2,45 GHz).

Solvente	Fator de dissipação ($\tan \delta$)
Etileno glicol	1,35 (alto)
Etanol	0,94 (alto)
Metanol	0,66 (alto)
Ácido acético	0,17 (médio)
Água	0,12 (médio)
Clorobenzeno	0,10 (médio)
Acetato de etila	0,06 (baixo)
Acetona	0,05 (baixo)
Hexano	0,02 (baixo)

Fonte: Kappe, Dallinger e Murphree (2009).

Dentre os parâmetros que podem interferir na extração, o solvente é o principal, entretanto, outros exercem influência, como: umidade, tamanho da amostra, temperatura, agitação, potência de micro-ondas, tempo de extração, solubilidade do composto no solvente e proporção amostra/solvente. Dentre as vantagens do micro-ondas perante os métodos convencionais, podem ser citados o aquecimento rápido e uniforme, maior rendimento, menor tempo, menor consumo de solventes e menor consumo de energia, porém, ao final do processo é necessária uma etapa de filtração (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

São escassas as informações na literatura sobre a extração de licopeno do bagaço de tomate por meio da técnica de MAE. Nesse sentido, pode-se citar o trabalho

desenvolvido por Pinela et al. (2016), que ao estudarem a otimização do MAE para extração de ácidos fenólicos e flavonoides do tomate liofilizado, relataram que a condição ótima foi atingida apenas no extrato aquoso, a 180 °C, por 20 min e com proporção sólido/líquido de 45 g/L.

2.4.3 Extração com líquido pressurizado (PLE)

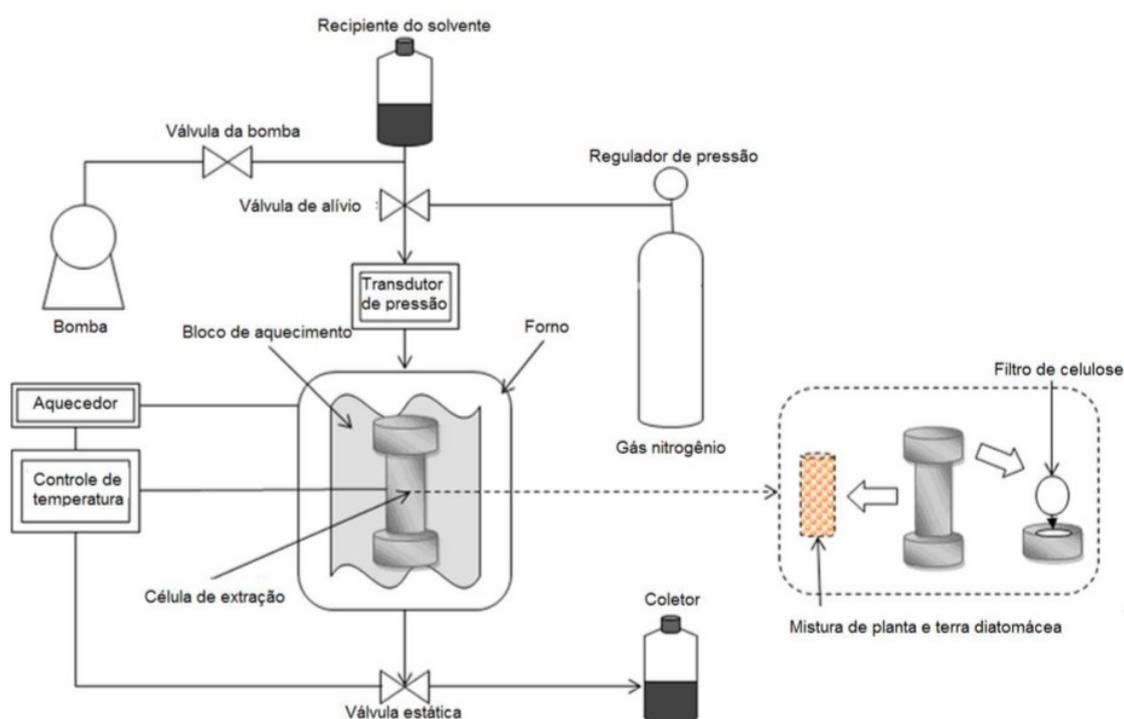
A extração com líquido pressurizado (PLE), ou do inglês *Pressurized Liquid Extraction* (PLE), foi originalmente desenvolvida pela empresa Dionex e foi apresentada na Conferência de Pittsburgh (Pittcon) em 1995. É uma técnica que envolve a utilização de solventes líquidos a temperatura e pressão elevadas, o que melhora o desempenho da extração em comparação com as técnicas realizadas a temperatura ambiente e pressão atmosférica. As altas pressões utilizadas impedem a formação de bolhas de ar na matriz, que podem impedir o solvente de atingir o analito e permitem que o solvente permaneça em estado líquido em temperaturas acima do seu ponto de ebulição atmosférico, melhorando a solubilização do soluto no solvente e favorecendo a transferência de massa, uma vez que a diminuição da viscosidade do solvente auxilia no rompimento das interações entre soluto e matriz. A utilização de temperaturas elevadas proporciona maior rendimento da extração, porém podem degradar compostos termossensíveis, portanto o curto tempo de extração é de fundamental importância para a eficiência do método (CAMEL, 2001; MUSTAFA; TURNER, 2011).

O processo de extração pode ser dividido em dinâmico ou estático. No modo dinâmico, a bomba fornece uma vazão de solvente a uma taxa de fluxo constante, durante um determinado período de tempo (por exemplo, 2,0 a 3,0 mL·min⁻¹ por 20 a 30 min) e a válvula de saída da célula de extração é mantida aberta, para a recuperação do extrato. Já na configuração estática, o solvente preenche o extrator, enquanto que a válvula de saída da célula de extração é mantida fechada, mantendo o solvente em contato com a matriz durante um tempo determinado (por exemplo, 5-15 min). Esse processo também pode apresentar diferentes ciclos de extração, para a substituição do solvente (por exemplo, 2-3 ciclos) (HENG et al., 2013; MUSTAFA; TURNER, 2011). A Figura 8 apresenta um diagrama esquemático do funcionamento de um extrator com líquido pressurizado.

O modo dinâmico demanda menos tempo e tem rendimento de extração igual ou até maior que o modo estático, por evitar a saturação do solvente. Já o modo estático tem como fator crítico o binômio tempo/temperatura, para um bom rendimento da extração,

porém proporciona maior penetração do solvente nos nano e micro poros da matriz, devido ao maior tempo de contato entre as fases. Dentre os parâmetros que podem interferir na extração podem ser citados: pressão, temperatura, características da partícula (massa da amostra, umidade, tamanho, forma da partícula e localização do composto alvo dentro da matriz), modo de operação (estático ou dinâmico), vazão (no modo dinâmico), número de ciclos (no modo estático), uso de aditivos (antioxidantes, como ácido ascórbico e BHT), tempo e solvente (NIETO et al., 2010).

Figura 8 – Esquema de funcionamento de um extrator com líquido pressurizado (PLE).



Fonte: Adaptado de Ko et al. (2011).

A utilização de misturas de solventes pode aumentar o rendimento de extração, melhorando a solubilidade e aumentando a interação do analito alvo com o solvente de extração. Nesse contexto, um solvente poderia melhorar a solubilidade do analito, enquanto o outro aumentaria a dessorção do analito. Os solventes mais utilizados em processos com líquidos pressurizados são: metanol, isopropanol, acetona, hexano e éteres. Entretanto, o etanol e a água vem sendo empregados em larga escala nos últimos anos para a extração de compostos bioativos, uma vez que são considerados solventes “verdes”. De maneira geral, a PLE é uma técnica alternativa que apresenta menor consumo de solvente e menor tempo de extração, quando comparada com técnicas

convencionais, sendo reconhecida como uma tecnologia verde (“green technology”) (MUSTAFA; TURNER, 2011).

2.5 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Nos últimos anos, planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos têm sido aplicados com frequência para a otimização de métodos analíticos, uma vez que permitem obter o máximo de informações a partir de um número mínimo de experimentos. Considerando suas vantagens, como a redução no número de experimentos que precisam ser executados, resultando em um menor consumo de reagente e consideravelmente menos trabalho laboratorial, é correto afirmar que a escolha do planejamento estatístico que mais se adequa ao sistema em estudo é de fundamental importância para a obtenção de dados maximizados (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010; FERREIRA et al., 2007).

Através de métodos estatísticos, é possível desenvolver modelos matemáticos que avaliem a relevância e significância dos efeitos de cada fator, assim como dos efeitos das interações entre os fatores. Entretanto, quando o efeito das interações entre os fatores é significativo, as respostas indicadas por planejamentos univariados serão diferentes das respostas da otimização multivariada (por exemplo, o planejamento composto central e o Box-Behnken). Nesse sentido, quanto maior forem os efeitos de interação, maior será a diferença que será encontrada usando estratégias de otimização univariada e multivariada (FERREIRA et al., 2007).

Um planejamento fatorial requer a execução de experimentos para todas as possíveis combinações de níveis dos fatores, logo é utilizada a fórmula de combinação 2^k , sendo k = número de fatores estudados. Nos planejamentos fatoriais de dois níveis, o nível superior e inferior são identificados com sinais (+1) e (-1), respectivamente. Estes valores são chamados de variáveis codificadas e ajudam a diminuir o esforço computacional nos softwares estatísticos. Além disso, para se obter resultados quanto a reprodutibilidade do sistema (erro experimental), são realizados ensaios idênticos na faixa central do experimento (pontos centrais) e codificados por (0); normalmente, três pontos centrais são suficientes. Em um exemplo de estudo com 3 fatores em 2 níveis, com 3 pontos centrais, é obtido um total de 11 experimentos ($2^3 + 3 = 11$ experimentos) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Quando um modelo linear (obtido por meio de planejamento fatorial completo simples) não é representativo, deve-se usar um modelo quadrático, como o planejamento composto central (PCC) ou o Box-Behnken. No caso do PCC, pontos são adicionados para que um modelo quadrático seja ajustado, chamados de pontos axiais. Neste caso, os 2^k ensaios (ensaios de base) permanecem e $2k$ ensaios são adicionados, além dos três pontos centrais sugeridos, ou seja, um total de 2^k+2k+3 experimentos. Portanto, em um exemplo de estudo com 3 fatores em 2 níveis, com 3 pontos centrais, é obtido um total de 17 experimentos. Os pontos axiais são valores fracionados, sendo $\alpha = \pm 1,41$ para $k=2$ e $\alpha = \pm 1,68$ para $k=3$ (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

2.5.1 Planejamento Box-Behnken

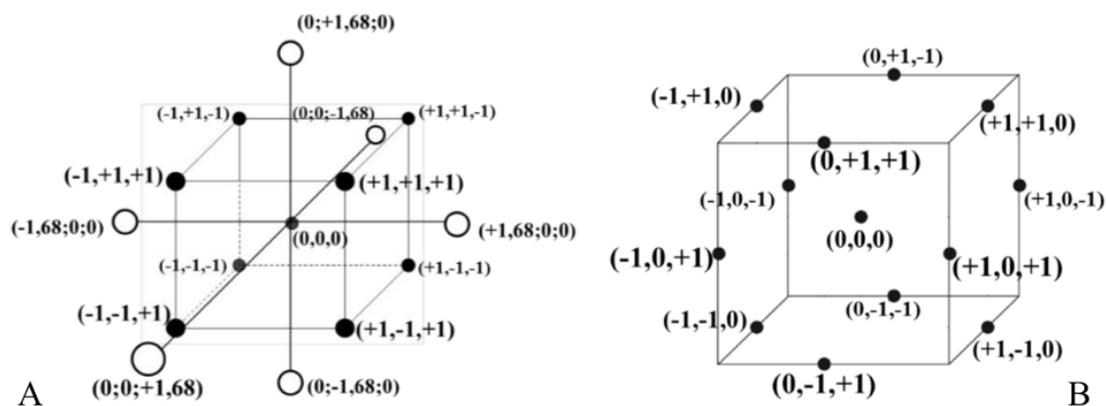
Dentre os planejamentos experimentais baseados em princípios estatísticos, destaca-se o planejamento apresentado por Box e Behnken em 1960, o qual possibilita a realização de ensaios com fatores (variáveis independentes), em três níveis diferentes. É uma das metodologias mais conhecidas e amplamente utilizada na química analítica, por ser capaz de interpretar e otimizar os resultados para a resposta de interesse, através da metodologia de superfície de resposta (MSR) (BOX; BEHNKEN, 1960; FERREIRA et al., 2007).

O planejamento experimental Box-Behnken, assim como o PCC, utiliza uma metodologia de superfície de resposta, gerando equações polinomiais quadráticas, além de apresentar excelentes resultados, especialmente, quando empregado em estudos com três fatores. É o planejamento ideal para casos em que há interações entre os fatores (modelos quadráticos) e que se utilize fatores com níveis inteiros, algo que não seria capaz de ser realizado em modelos lineares ou no PCC, uma vez que exigem valores fracionários em seus pontos axiais (WU et al., 2012).

No planejamento Box-Behnken (para três fatores), o número de experimentos é dado por $N = 2k(k-1) + PC$, onde k é o número de variáveis e PC o número de replicatas no ponto central. Portanto, em um exemplo de estudo com 3 fatores em 3 níveis, com 3 pontos centrais, é obtido um total de 15 experimentos, demonstrando ser mais eficiente que outros métodos. Além disso, os pontos experimentais estão localizados na metade das arestas e não nos vértices de um cubo, como no PCC (QIAN et al., 2013). Uma representação dos pontos experimentais e centrais dos planejamentos pode ser observada

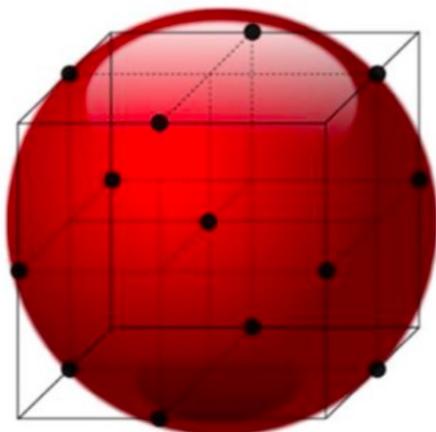
na Figura 9. A Tabela 5 mostra as combinações necessárias para a execução deste tipo de planejamento.

Figura 9 – Representação dos pontos experimentais e centrais do planejamento composto central (a) e por Box-Behnken (b), com $k=3$.



Fonte: Qian et al. (2013).

Segundo Mendes (2015), é possível observar que mesmo com um número de experimentos inferior ao necessário no PCC, ainda é possível obter um modelo polinomial de segunda ordem (sem os pontos axiais). Isto é possível devido à chamada rotabilidade, que representa a possibilidade de pontos do planejamento estarem contidos em uma circunferência ($k=2$) ou uma esfera ($k=3$) cujo centro está na mesma posição dos pontos centrais. Isso representa que a variância é a mesma para todas as respostas previstas, de modo que planejamento não produza qualquer efeito em qualquer direção preferencial, como mostra a Figura 10.

Figura 10 – Representação da rotabilidade do planejamento Box-Behnken com $k=3$.

Fonte: Mendes (2015).

Tabela 5 - Combinações de fatores necessária para realização de um planejamento Box-Behnken para $k=3$.

Ensaio	Variável Codificada		
	Fator 1	Fator 2	Fator 3
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

2.5.2 Otimização multiresposta

A otimização multiresposta é uma estratégia utilizada quando se pretende avaliar simultaneamente mais de uma variável de resposta fornecidas por um planejamento e encontrar os valores operacionais ótimos das variáveis independentes que satisfaçam simultaneamente todos os requisitos necessários às variáveis dependentes. A otimização do estudo pode ser realizada através das superfícies de respostas ou pela função desejabilidade. As superfícies de resposta podem ser determinadas para cada resposta e essas superfícies podem ser analisadas simultaneamente, sendo utilizado quando o

número de variáveis significativas é pequeno. Quando o número de variáveis significativas é grande, opta-se por uma função composta (que leva em consideração todas as respostas) para obter uma única superfície de resposta (FERREIRA et al., 2007).

Um dos métodos mais utilizados para realizar a otimização multiresposta é a função desejabilidade, desenvolvido por Derringer e Suich em 1980. Neste método, são determinadas as superfícies de resposta individuais de cada resposta. Em seguida, os valores são transformados em uma escala adimensional d_i . A escala da função desejabilidade pode variar de 0 a 1, sendo 0 uma resposta completamente indesejável e 1 uma resposta totalmente desejável, sendo possível aplicar importância (pesos) para cada variável. Através de uma média geométrica, os valores de desejabilidade individuais são combinados formando a desejabilidade global (D_G), através da Equação 2. Por fim, um algoritmo é aplicado à função D_G para determinar o conjunto de valores de variáveis que a maximizem. Com o método, é possível obter respostas maximizadas, minimizadas ou com um valor intermediário; portanto, diferentes tipos de funções desejabilidade podem ser utilizadas. (DERRINGER; SUICH, 1980).

$$D_G = \sqrt{d_1y_1 * d_2y_2 * ... * d_ky_k} \quad (2)$$

2.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE O ESTADO DA ARTE

Na literatura estão disponíveis alguns estudos sobre a secagem de tomate, porém são poucos os estudos sobre a secagem do bagaço de tomate, um subproduto altamente perecível. Além disso, os poucos estudos visando a extração de compostos bioativos do bagaço de tomate, disponíveis na literatura, foram realizados utilizando técnicas convencionais ou técnicas alternativas diferentes das empregadas neste trabalho. Nesse contexto, até o presente momento, não foram encontrados estudos na literatura sobre a avaliação de diferentes técnicas de secagem e extração de compostos bioativos do bagaço de tomate com atividades antioxidantes. O bagaço de tomate representa cerca de 4% do fruto e atualmente é destinado a alimentação animal ou descartado no ambiente. Entretanto, com o crescimento da produção de produtos a base de tomate nas últimas décadas, é comum ocorrer acúmulo nas indústrias e assim, um maior descarte desse subproduto.

Com relação a secagem do tomate pode-se citar os trabalhos de: Chang et al. (2006), utilizando estufa com circulação forçada de ar e liofilização; Doymaz (2007),

utilizando um pré-tratamento alcalino, seguido de estufa com circulação forçada de ar; Demiray, Tulek e Yilmaz (2013), avaliando diferentes temperaturas em uma estufa com circulação forçada de ar; Tan et al. (2020), utilizando estufa com circulação forçada de ar e liofilização; Pallai-Varsányi, Tóth e Gyenis (2007), que secaram uma polpa concentrada de tomate em leito de jorro. Os autores observaram que os produtos secos por meio de ar quente (por exemplo, estufa e o leito de jorro) apresentaram maiores teores de licopeno.

Sobre a secagem do bagaço de tomate não foram encontrados estudos com secagem em leito de jorro porém, pode-se citar os trabalhos de: Kaur et al. (2006), utilizando um secador de leito fluidizado para avaliar as isotermas de sorção e características de secagem; Al-Harashseh, Al-Muhtaseb e Magee (2009), utilizando uma amostra com pré-tratamento com NaCl, seguido de secagem por micro-ondas, e outra sem o pré-tratamento, para avaliar a diminuição do tempo de secagem; Al-Muhtaseb et al. (2010), utilizando uma amostra com pré-tratamento com NaCl, seguido de estufa com circulação forçada de ar, e outra sem o pré-tratamento, para avaliar a diminuição do tempo de secagem; Shao et al. (2013), utilizando uma estufa com circulação forçada de ar para auxiliar na etapa posterior de extração de licopeno; Nour, Ionica e Trandafir (2015), utilizando estufa com circulação forçada de ar, para o desenvolvimento de uma farinha para utilização na panificação, e por Badaoui et al. (2018), utilizando uma estufa solar, para a redução dos impactos ambientais gerados pelos resíduos do tomate, tais como: odor, pragas e grande quantidade de área necessária para aterros sanitários. A pouca quantidade de estudos visando a secagem desse material poderia ser associada ao elevado custo energético em comparação ao baixo retorno econômico da ração animal, o produto acabado. Entretanto, no caso de uma aplicação com alto retorno econômico, como o desenvolvimento de extratos com capacidade antioxidante, esta etapa torna-se fundamental, uma vez que o material apresenta elevada umidade e é altamente perecível.

A extração de compostos bioativos (como o licopeno) do bagaço de tomate, é um processo recente, portanto, é mais comum encontrar estudos na literatura utilizando métodos alternativos do que métodos convencionais. Dentre estes estudos, destaca-se a extração com fluido supercrítico (ESC), extração assistida por ultrassom (EAU), extração assistida com enzimas (EAE), microemulsão e extração com solventes eutéticos profundos. Artigos empregando estas diferentes técnicas para a extração de licopeno do bagaço de tomate podem ser observados nas Tabela 6 e 7.

Tabela 6 – Literatura disponível sobre extração de licopeno do bagaço de tomate por ESC.

Metodologia	Resultado	Referência
Bagaço seco em estufa solar (5 dias), seguido de ESC.	Teor de licopeno variando de 23,5 a 167,2 μg licopeno/g. Melhor condição de 300 bar e 65 °C.	(Bayzal; Ersus; Starmans, 2000).
Bagaço semi-seco (51 % de umidade), seguido de ESC usando CO ₂ .	Teor de licopeno variando de 9,48 a 14,86 μg licopeno/g. Melhor condição a 345 bar e 86 °C.	(Rozzi et al., 2002).
Bagaço seco em estufa a vácuo (40 °C por 24 h), seguido de ESC usando CO ₂ .	Teor de licopeno variando de 59 a 195 μg licopeno/g. Melhor condição de 300 bar e 80 °C.	(Sabio et al., 2003).
Pele seca, seguida de ESC usando CO ₂ , variando pressão e temperatura.	Teor de licopeno de 1,18 μg licopeno/g. Melhor condição de 400 bar e 100 °C.	(Topal et al., 2006).
Bagaço seco, seguido de comparação entre Soxhlet (Hexano e etanol) e ESC.	Teor de licopeno variando de 27 a 32 μg licopeno/g. Soxhlet com etanol obteve maior rendimento. ESC obteve maior teor de licopeno (460 bar e 80 °C).	(Vági et al., 2007).
Bagaço seco em estufa (40 °C), seguido de ESC.	Teor de licopeno variando de 100 a 213 μg licopeno/g. Melhor condição de 300 bar e 60 °C.	(Nobre et al., 2009).
Suco de tomate centrifugado, usando a parte sólida para ESC (CO ₂ e etanol como co-solvente).	Teor de licopeno variando de 6,48 a 64,7 μg licopeno/g. Melhor condição a 350 bar e 80 °C	(Egydio; Moraes; Rosa, 2010).
Bagaço seco, seguido de ESC usando CO ₂ , variando pressão, temperatura e vazão de solvente.	Teor de licopeno variando de 16,4 a 377,2 μg licopeno/g. Melhor condição de 400 bar e 90 °C.	(Machmudah et al., 2012).
Bagaço seco em estufa solar, seguido de ESC.	Teor de licopeno variando de 482 a 723 μg licopeno/g. Melhor condição a 400 bar e 80 °C.	(Kehili et al., 2017).
Diferentes proporções de pele e sementes (amostras secas e moídas), seguido de ESC.	Teor de licopeno variando de 70 a 170 μg licopeno/g. Melhor condição de 500 bar e 80 °C.	(Vallecilla-Yepez; Ciftci, 2018).
Bagaço seco. ESC variando pressão, temperatura e vazão de solvente.	Teor de licopeno de 1,32 μg licopeno/g. Melhor condição de 500 bar e 80 °C	(Hatami; Meireles; Ciftci, 2019).

Tabela 7 – Literatura disponível sobre extração de licopeno do tomate.

Amostra	Objetivo	Metodologia	Resultados	Referência
Pele do bagaço de tomate	Comparar diferentes condições de extração de licopeno do tomate.	Secagem em leiteo fluidizado a 70 °C, seguido de extração com solvente (agitação e banho maria) com diferentes proporções de hexano, acetona e etanol.	O maior rendimento foi encontrado com a combinação de 8 minutos a 50 °C. Teor de licopeno variando de 6,39 a 19,8 µg licopeno/g.	(Kaur et al., 2008).
Tomates frescos	Comparar técnicas de extração de licopeno por ultrassom.	Extração combinada por ultrassom e micro-ondas (EAUM) e extração assistida por ultrassom (EAU), usando acetato de etila como solvente.	O método EAUM obteve uma eficiência de extração de licopeno de 97,4 % em 6 min, enquanto que o método EAU obteve 89,4 % de rendimento em 29 min.	(Lianfu; Zelong, 2008).
Bagaço de tomate	Extração de licopeno em água usando altas pressões.	Extrator Naviglio® (extração sólido-líquido, com alta pressão) com 60 cilcos (4 h).	Teor de licopeno variando de 1,5 a 3,9 µg licopeno/g. Foi obtido um licopeno de alta pureza e não houve diferença significativa entre água destilada e água da torneira.	(Naviglio et al., 2008)
Bagaço de tomate liofilizado	Aplicar o conceito de biorrefinaria para o processo produtivo da polpa de tomate.	Extração com fluido supercrítico (ESC) usando CO ₂ a 450 bar e 70 °C, seguido de extração enzimática dos carboidratos presentes no resíduo da extração.	A partir do resíduo industrial do tomate, foi obtido um extrato com capacidade antioxidante e o resíduo da extração foi utilizado para a produção de etanol.	(Lenucci et al., 2013).
Bagaço de tomate	Diminuição no teor de colesterol em ratos.	Secagem em estufa a 40 °C por 24 h, seguido de extração com solvente (usando hexano a 40 °C por 8 min e 400 rpm). O solvente foi rotaevaporado e seguiu-se para os testes em ratos.	Teor de licopeno de 100,2 µg licopeno/g. Aumento de 44 % no ganho de peso, redução de 18 % no teor de lipídios no fígado, e redução de 21 % no teor de colesterol no fígado, mas não houve redução significativa no teor de colesterol.	(Shao et al., 2013)
Pele de tomate	Produção de um óleo enriquecido com licopeno.	Extração assistida com enzimas (EAE) usando Peclyve LI (principalmente poligalacturonase) e hexano	Teor de licopeno variando de 50 a 500 µg licopeno/g. As peles são uma fonte viável para a obtenção de óleos enriquecidos com licopeno.	(Zuorro et al., 2013)
Bagaço de tomate seco	Otimização da extração de carotenoides do bagaço por EAU.	Aplicações de pressões moderadas na extração assistida por ultrassom (EAU), utilizando mistura de hexano e etanol.	A extração de carotenoides foi superior com o aumento da pressão, sendo otimizada em 94 µm de vibração de amplitude, 0,5 bar e 6 min.	(Luengo et al., 2014).
Pele de tomate seco	Estudar a cinética de extração do licopeno do bagaço de tomate.	Extração com solvente, e proporções de solvente (acetona e hexano).	A condição ótima foi estabelecida a 30 °C, com 1:3 v/v (acetona/hexano) e com teor de licopeno variando de 3,47 a 4,03 µg licopeno/g.	(Poojary; Passamonti, 2015).
Tomate liofilizado	Otimização do MAE para extração de ácidos fenólicos e flavonoides.	Extração assistida por micro-ondas (MAE) em diferentes temperaturas, tempo e proporções de solvente (etanol e água).	A condição ótima foi atingida apenas no extrato aquoso, a 180 °C, por 20 min e com proporção sólido/líquido de 45 g/L.	(Pinela et al., 2016).

Tabela 7 – Continuação: Literatura disponível sobre extração de licopeno do tomate.

Amostra	Objetivo	Metodologia	Resultados	Referência
Bagaço de tomate	Aplicar o conceito de biorefinaria para o bagaço de tomate.	Secagem em estufa a 55 °C por 24 h e liofilização, seguido de extração com solvente (mistura de hexano, acetona e etanol). Por fim, digestão anaeróbica para produção de gás combustível.	O maior rendimento de extração de licopeno se deu a 100 °C por 90 min, com um teor de licopeno de 26,9 µg licopeno/g.	(Allison; Simmons, 2017).
Bagaço de tomate	Extração de licopeno do bagaço de tomate	Extração com solvente (agitação e banho maria) com: Hexano, éter de petróleo, acetona, acetato de etila, etanol e suas misturas.	Teor de licopeno variando de 4,8 a 121,1 µg licopeno/g. Melhor condição de extração foi com a mistura de Acetona:Acetato de etila (1:1) a 40 °C por 5 h.	(Pandya et al., 2017)
Bagaço de tomate	Extração de licopeno utilizando microemulsão a base de azeite de oliva e lecitina.	Microemulsão de lecitina/1-propanol, azeite de oliva e água, em agitador magnético (40 °C a 300 rpm), seguido de centrifugação para separação das fases.	Teor de licopeno variando de 92,8 a 233,4 µg licopeno/g. A melhor condição de extração foi: lecitina/1-propanol, azeite de oliva e água (80:10:10), resultando em uma eficiência de extração de 63 e 88 % após 1 e 4 ciclos de extração, respectivamente.	(Amiri-Rigi; Abbasi, 2019).
Bagaço de tomate	Aplicar o conceito de biorefinaria para o bagaço de tomate	Extração com fluido supercrítico (ESC) usando CO ₂ a 380 bar e 80 °C, seguido de uma digestão anaeróbica para produção de gás combustível.	Teor de licopeno variando de 40 a 619 µg licopeno/g. A partir do resíduo industrial do tomate, foi obtido um extrato com capacidade antioxidante e o resíduo da extração foi utilizado para a produção de biogás.	(Scaglia et al., 2019).
Bagaço de tomate liofilizado	Utilização de solvente eutético profundo para a extração de licopeno de bagaço de tomate.	Extração utilizando solventes eutéticos a 60 °C por 30 min, seguido de extração assistida por ultrassom (EAU)	O sistema composto de DL-mentol e ácido láctico mostrou maior capacidade de extração de licopeno, sendo otimizado com EAU a 70 °C por 10 min. Teor de licopeno variando de 774 a 1446 µg licopeno/g.	(Silva et al., 2019)
Bagaço de tomate	Obtenção de um extrato do bagaço de tomate, com propriedades bioativas.	Secagem em estufa a 60 °C por 48 h, seguido de extração assistida por ultrassom (EAU) a 45 °C, com diferentes proporções de água e etanol e em diferentes tempos.	O extrato aquoso apresentou maior rendimento que o extrato etanólico, sendo observado um teor de licopeno de 77,4 µg licopeno/g na condição ótima.	(Concha-Meyer et al., 2020)

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi executado em cinco etapas: 1) Obtenção da matéria-prima; 2) Secagem do bagaço de tomate; 3) Moagem da amostra seca; 4) Obtenção dos extratos e 5) Caracterização dos extratos obtidos.

3.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

O bagaço de tomate industrial, composto por sementes e cascas, foi cedido pela empresa Cargill – unidade de Goiânia, localizada no estado de Goiás, Brasil, sendo devidamente armazenado em sacos de polietileno e congelados a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a recepção no Laboratório de Termofluidodinâmica e Sistemas Particulados (LATESP) na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (UFG), pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Gilberto Alexandre Soares Goulart, para a realização das posteriores etapas de secagem.

3.2 SECAGEM DO BAGAÇO DE TOMATE

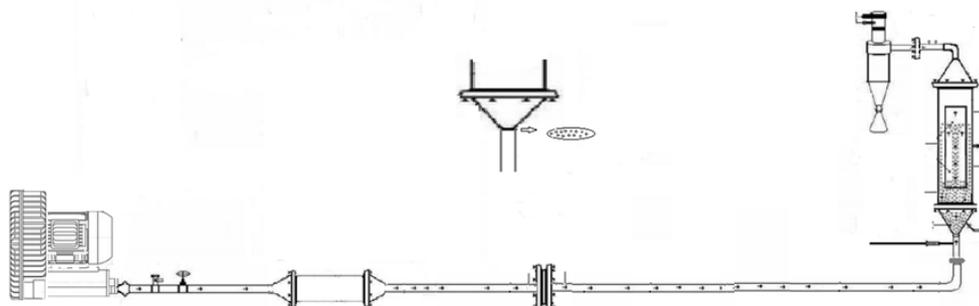
3.2.1 Secagem em Leito de Jorro

Os procedimentos de secagem do bagaço de tomate foram realizados pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Gilberto Alexandre Soares Goulart (LATESP/UFG), onde o equipamento de secagem utilizado, ilustrado na Figura 11, foi um secador do tipo leito de jorro, constituído de uma base cônica em aço inoxidável com ângulo de 60° , diâmetro de orifício de entrada de 3,5 cm e diâmetro superior de 21 cm. Na entrada da base cônica inferior havia uma tela metálica para sustentar e evitar a queda das partículas inertes do interior do leito para a tubulação. Acoplado à base cônica existia uma coluna cilíndrica em aço inoxidável, com 21 cm de diâmetro e 70 cm de altura. A parte superior do secador era formada por outro cone em aço inoxidável com ângulo de 45° . Acoplado a parte superior existia um ciclone lapple de aço inox com 10 cm de diâmetro e 20 cm de comprimento. O material inerte utilizado na secagem era constituído por partículas de polietileno, com densidade de $921\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, esfericidade de 0,87 e diâmetro médio de 0,44 cm. Como equipamentos periféricos, foi usado um trocador de calor elétrico cilíndrico de 12,7 cm, composto por duas resistências de 1000 W, fornecendo potência máxima de 2000 W, conectadas a um controlador de temperatura digital. Foram empregados 4,9 m de tubulação em aço inox, com 5 cm de diâmetro, duas válvulas de esfera de 5 cm de diâmetro, conexões e um soprador radial acionado por um motor trifásico, com potência de 5,5

kW. Os controles de pressão e temperatura foram colocados próximos a entrada de ar na base cônica inferior e acoplado ao trocador de calor.

Inicialmente 400 g de partículas inertes foram inseridas no interior do leito, em seguida, foram adicionados 320 g de amostra de bagaço de tomate. A determinação das condições operacionais de secagem foi baseada em estudos preliminares e com o intuito de preservar os compostos termossensíveis presentes na amostra, sendo estabelecida a altura de leito de 15 cm (com auxílio de um manômetro de tubo em U), temperatura de 70 °C e duração de 1,5 h. Para o recolhimento da amostra seca, foi utilizado um kitassato, seguramente vedado, acoplado na base do ciclone lapple. Todo o material recolhido após a secagem foi pesado, armazenado em recipientes de polietileno, congelados a -18 °C e enviados até o Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Figura 11 - Desenho esquemático do secador do tipo leito de jorro (LATESP/UFG).



Fonte: Autor (2021).

3.2.2 Secagem em Estufa

Para efeito de comparação com a secagem em leito de jorro, o bagaço de tomate industrial foi seco em estufa com circulação forçada de ar (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil), a 70 °C por 12 h. O bagaço de tomate foi depositado em formas metálicas de modo que tivesse todo o seu leito superior disponível para contato com o ar quente de circulação. A amostra seca

foi pesada, armazenada em recipientes de polietileno e congelada a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ e enviados até o LATESC/UFSC.

3.3 MOAGEM DA MATÉRIA-PRIMA

As amostras de bagaço de tomate industrial secas em leito de jorro e em estufa com circulação forçada de ar foram moídas em um moinho de facas do tipo Willey (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) no LATESC/UFSC. Em seguida, foi realizada a determinação granulométrica das farinhas obtidas, segundo a AOAC (1997). Despejou-se 100 g de amostra em um conjunto de oito peneiras granulométricas (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda, Caieiras/SP, Brasil) de 16, 20, 25, 32, 40, 48, 65 e 80 *mesh*. Em seguida, a amostra foi peneirada em um agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda, Caieiras/SP, Brasil) por 15 min, com vibração. As frações de cada peneira foram pesadas, para calcular o percentual de amostra em cada faixa de granulometria.

Para a estimativa do diâmetro médio das partículas, seguiram-se os cálculos propostos por ASAE (2004), por meio das Equações 3 e 4. Em seguida, as amostras foram armazenadas em frascos de polietileno de alta densidade (PEAD) pigmentados, com o intuito de auxiliar na preservação dos compostos fotossensíveis da amostra, por possuir alta impermeabilidade à umidade, ao oxigênio e resistência à luz solar (WHELAN, 1989).

$$d_{gw} = \log^{-1} \left[\frac{\sum_{i=1}^n (W_i \log D_i)}{\sum_{i=1}^n W_i} \right] \quad (3)$$

$$D_i = (d_i \cdot d_{i+1})^{1/2} \quad (4)$$

Onde: d_{gw} é o diâmetro médio das partículas (mm), d_i é o diâmetro da peneira i (mm), d_{i+1} é o diâmetro da peneira maior (mm), W_i é a massa retida na peneira i (g) e n é o número de peneiras.

3.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Visando obter extratos por meio do conceito da química verde foram empregados apenas solventes classificados como “verdes” ou GRAS (do inglês, *Generally Recognized as Safe*) como o etanol (99,8%, Neon, São Paulo, Brasil) e o acetato de etila (99,5%, Neon, São Paulo, Brasil). Segundo Pandya et al. (2017), o licopeno apresenta baixa solubilidade em solventes muito apolares, portanto, optou-se por utilizar solventes verdes de média polaridade. O

rendimento de cada extração (X_0) foi calculado por meio do quociente da massa da matéria extraída (m_e) pela massa inicial de matriz vegetal (m_i), conforme a Equação 5. Todos os processos de extração foram realizados no LATESC/UFSC.

$$X_0 = \left(\frac{m_e}{m_i} \right) * 100 \quad (5)$$

3.4.1 Soxhlet

A extração das amostras de bagaço de tomate secos em leite de jorro e em estufa com circulação forçada de ar pelo método Soxhlet foi realizada segundo AOAC (1997), método nº 922.06. Foram medidos 3 g de amostra diretamente em cartucho de papel de filtro qualitativo (UNIFIL) e posteriormente inserido no extrator Soxhlet, para manter a mesma proporção de soluto e de solvente (1:20) dos demais métodos de extração. Adicionou-se 120 mL de solvente (Etanol ou Acetato de Etila) a um balão de fundo chato, em seguida, ligou-se a manta de aquecimento para aquecimento do solvente. O tempo total de extração foi de 6 h contadas a partir do início do gotejamento, sendo as extrações realizadas em triplicata. Após cada extração, as soluções foram evaporadas em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801, São Paulo, Brasil) para a remoção do solvente. Por fim, os extratos foram armazenados em frascos âmbar e acondicionados em freezer a -18 °C.

3.4.2 Extração Assistida com Micro-ondas (MAE)

As extrações assistidas por micro-ondas para as amostras de bagaço de tomate secas em leite de jorro foram realizadas segundo metodologia de Mazzutti et al. (2017). Pesou-se 1 g de amostra em um frasco de reação de vidro borossilicato, em seguida adicionou-se 20 mL de solvente (mantendo a mesma proporção de soluto e de solvente dos demais métodos de extração). O frasco foi lacrado e introduzido no aparelho de micro-ondas (Monowave™ 300, Anton Paar). O equipamento seguiu as condições previamente estabelecidas: 1) aquecimento até a temperatura desejada; 2) reação a 1000 rpm e 3) resfriamento utilizando ar comprimido até a temperatura de 45 °C. O delineamento experimental de Box-Behnken, com três níveis e 15 experimentos, foi utilizado para a análise e otimização dos resultados podendo ser observado na Tabela 8. Após as extrações, as soluções foram filtradas em papel de filtro qualitativo (UNIFIL) e o filtrado obtido foi evaporado em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801, São

Paulo, Brasil) para a remoção do solvente. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar e acondicionados em freezer a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As variáveis do processo para o delineamento experimental de Box-Behnken foram: temperatura (T) de 50, 70 e $90\text{ }^{\circ}\text{C}$; solvente (mistura etanol-acetato de etila) 10:90, 50:50 e 90:10 (v/v) e tempo (t) de 1, 3 e 5 min. Após a determinação da condição ótima, como comparação, foi realizada a extração para a amostra de bagaço de tomate seca em estufa.

Tabela 8 - Delineamento experimental utilizado para a obtenção de extratos do bagaço de tomate seco por leite de jorro no MAE.

Ensaio	Variável Codificada			Variável Real		
	T ($^{\circ}\text{C}$)	Etanol:Acetato	t (min)	T ($^{\circ}\text{C}$)	Etanol:Acetato	t (min)
1	-1	-1	0	50	10:90	3
2	1	-1	0	90	10:90	3
3	-1	1	0	50	90:10	3
4	1	1	0	90	90:10	3
5	-1	0	-1	50	50:50	1
6	1	0	-1	90	50:50	1
7	-1	0	1	50	50:50	5
8	1	0	1	90	50:50	5
9	0	-1	-1	70	10:90	1
10	0	1	-1	70	90:10	1
11	0	-1	1	70	10:90	5
12	0	1	1	70	90:10	5
13	0	0	0	70	50:50	3
14	0	0	0	70	50:50	3
15	0	0	0	70	50:50	3

Quatro variáveis dependentes foram obtidas como respostas: X_0 (rendimento de extração), DPPH, FRAP e β -Caroteno, codificadas como Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 , respectivamente. Estas respostas foram medidas de acordo com: Temperatura (T), solvente e tempo (t) e codificadas como X_1 , X_2 e X_3 , respectivamente. A influência destes três fatores (temperatura, solvente e tempo) nas respostas foi avaliada usando o seguinte modelo quadrático, descrito na Equação 6.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 \quad (6)$$

Onde: Y é variável dependente; β_0 é o intercepto; β_1 , β_2 e β_3 são os coeficientes lineares; β_{11} , β_{22} e β_{33} são os coeficientes quadráticos; β_{12} , β_{13} e β_{23} são os coeficientes de interação, X_1 , X_2 e X_3 são as variáveis independentes.

Para a análise do modelo, da significância estatística dos coeficientes avaliados e para a identificação da condição ótima (por meio da função desejabilidade) foi utilizado o programa Statistica (StatSoft, Inc. v. 13.5.0.17, EUA). A função desejabilidade para o cálculo da condição ótima foi realizada segundo Derringer e Suich (1980), com cada resposta recebendo a mesma importância (peso). A função converte cada resposta em uma função individual que vai de 0 a 1 (sendo 0 uma resposta completamente indesejável e 1 uma resposta totalmente desejável) e atua utilizando métodos de programação não-linear para maximizar a desejabilidade global.

Com a determinação da condição ótima, foram feitas novas extrações nestas condições, tanto para a amostra seca em leite de jorro quanto para a amostra seca em estufa. O extrato diluído (filtrado) obtido foi rotaevaporado e armazenado em frasco âmbar a -18°C . As extrações foram realizadas em triplicata.

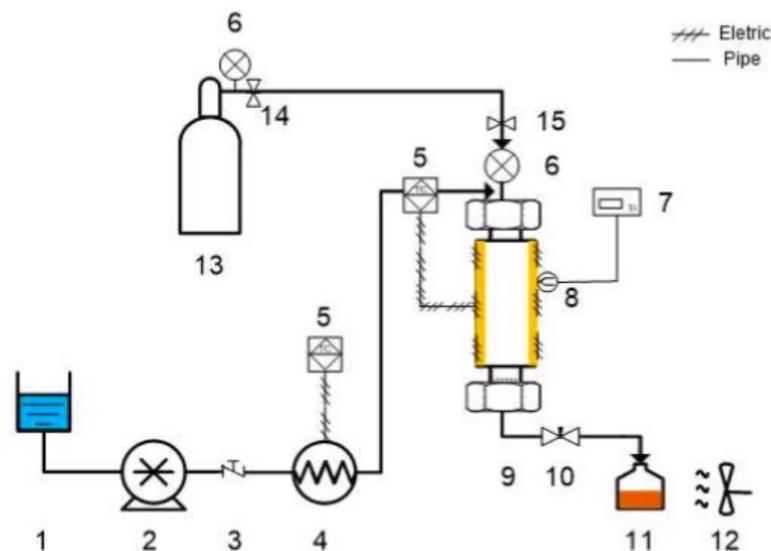
3.4.3 Extração com Líquido Pressurizado (PLE)

Os ensaios de extração com líquido pressurizado (PLE) do bagaço de tomate seco em leite de jorro foram realizados em uma unidade de extração desenvolvida no LATESC/UFSC, segundo Rodrigues et al. (2019), conforme apresentada na Figura 12.

Inicialmente o leite de extração foi preenchido com 5 g de amostra e completado com camadas de esferas de vidro e algodão, formando um leite compactado. Uma mistura de solventes (etanol:acetato de etila) foi bombeada para o leite de extração a uma vazão de $10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ por uma bomba de CLAE (Waters, Modelo 515, EUA) até que o mesmo atingisse a pressão de 10 MPa. A mistura de solventes passou por um sistema de pré-aquecimento onde se atingiu a temperatura de trabalho desejada, até chegar ao leite de extração aquecido por um sistema de resistências elétricas. Foram acrescentados 100 mL da mistura de solventes no leite de extração (mantendo a mesma proporção de soluto e de solvente dos demais métodos de extração). Um delineamento experimental de Box-Behnken, com três níveis e 15 experimentos,

também foi utilizado para a análise e otimização dos resultados, como pode ser observado na Tabela 9. Após as extrações, as soluções foram evaporadas em evaporador rotativo (Fisatom, Modelo 801, São Paulo, Brasil) para a remoção do solvente. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar e acondicionados em freezer a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 12 - Desenho esquemático da unidade PLE (LATESC/UFSC): 1) Reservatório de água; 2) Bomba de solvente; 3) Válvula de retenção; 4) Trocador de calor; 5) Controlador automático de temperatura; 6) Manômetro; 7) Indicador de temperatura; 8) Termopar; 9) Célula de extração; 10) Válvula de agulha do regulador; 11) Frasco coletor; 12) Refrigerador; 13) cilindro de N_2 ; 14) Válvula reguladora; 15) Válvula de bloqueio.



Fonte: Rodrigues et al. (2019).

As variáveis do processo para o delineamento experimental de Box-Behnken foram: temperatura (T) de 50, 70 e $90\text{ }^{\circ}\text{C}$; solvente (mistura etanol-acetato de etila) 10:90, 50:50 e 90:10 (v/v) e vazão (V) de 2, 5 e $8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (50, 20 e 12,5 min de extração, respectivamente). Após atingidas as condições de processo (mantendo constante a pressão de 10 MPa), iniciou-se o bombeamento do solvente e abriu-se a válvula de saída (para a coleta dos extratos). Após a determinação da condição ótima, extrações foram realizadas para as amostras de bagaço de tomate secas em estufa com circulação de ar nesta condição.

Tabela 9 - Delineamento experimental utilizado para a obtenção de extratos do bagaço de tomate seco por leito de jorro no PLE.

Ensaio	Variável Codificada			Variável Real		
	T (°C)	Etanol:Acetato	V (mL·min ⁻¹)	T (°C)	Etanol:Acetato	V (mL·min ⁻¹)
1	-1	-1	0	50	10:90	5
2	1	-1	0	90	10:90	5
3	-1	1	0	50	90:10	5
4	1	1	0	90	90:10	5
5	-1	0	-1	50	50:50	2
6	1	0	-1	90	50:50	2
7	-1	0	1	50	50:50	8
8	1	0	1	90	50:50	8
9	0	-1	-1	70	10:90	2
10	0	1	-1	70	90:10	2
11	0	-1	1	70	10:90	8
12	0	1	1	70	90:10	8
13	0	0	0	70	50:50	5
14	0	0	0	70	50:50	5
15	0	0	0	70	50:50	5

Assim como no MAE, quatro variáveis dependentes foram obtidas: X_0 (rendimento de extração), DPPH, FRAP e β -Caroteno, codificadas como Y_1 , Y_2 , Y_3 e Y_4 , respectivamente. Estas respostas foram medidas de acordo com: Temperatura (T), solvente e vazão (V) e codificadas como X_1 , X_2 e X_3 , respectivamente. A influência destes três fatores (temperatura, solvente e vazão) nas respostas foi avaliada usando o modelo quadrático, descrito na Equação 6.

Para a análise do modelo, da significância estatística dos coeficientes avaliados e para a identificação da condição ótima (por meio da função desejabilidade) foi utilizado o programa Statistica (StatSoft, Inc. v. 13.5.0.17, EUA). Com a determinação da condição ótima, foram feitas novas extrações para a amostra seca em leito de jorro. Posteriormente, seguiu-se para a extração da amostra seca em estufa com circulação de ar. As soluções obtidas foram evaporadas em evaporador rotativo e o extrato foi armazenado em frasco âmbar a -18 °C. Essas extrações foram realizadas em triplicata.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO OBTIDO

3.5.1 DPPH

A análise da atividade antioxidante pelo método do *2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) foi realizada segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) adaptado para o leitor de microplacas. Inicialmente preparou-se uma solução estoque de Trolox a $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, EUA) em água destilada, para utilização como antioxidante de referência e para a construção da curva de calibração. Em seguida, preparou-se uma solução estoque de DPPH a $125 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, EUA) em etanol (99,8%, Neon, São Paulo, Brasil). Os extratos foram diluídos em etanol de maneira a se obter uma concentração de $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Em seguida, os extratos diluídos foram inseridos em um banho ultrassônico (Ultronique Q3.0/37A, Eco-Sonics, Indaiatuba, Brasil) a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 min para auxiliar na completa diluição dos extratos.

Por fim, $50 \mu\text{L}$ das amostras foram pipetadas para uma microplaca de 96 poços, juntamente com $250 \mu\text{L}$ da solução estoque de DPPH. O branco consistiu em $50 \mu\text{L}$ de amostra com $250 \mu\text{L}$ do solvente utilizado para a diluição das amostras (etanol) e o controle consistiu em $50 \mu\text{L}$ de etanol com $250 \mu\text{L}$ da solução estoque de DPPH. As soluções ficaram em repouso durante 30 min, sob ausência de luz e, em seguida, suas absorbâncias foram lidas em um comprimento de onda de 517 nm no espectrofotômetro para microplacas (Multileitora Infinite M200 Tecan) no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB/UFSC).

Após a leitura, o cálculo da atividade antioxidante pelo método de DPPH foi realizado conforme descrito na Equação 7. Os resultados foram posteriormente convertidos para $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato.

$$AA (\%) = 100 - \left(\frac{[ABS_{Amostra} - ABS_{Branco}]}{ABS_{Controle}} * 100 \right) \quad (7)$$

Onde: AA é a atividade antioxidante em porcentagem; $ABS_{Amostra}$, ABS_{Branco} e $ABS_{Controle}$ referem-se as absorbâncias da amostra, do branco e do controle, respectivamente.

3.5.2 Método de Redução do Íon Férrico (FRAP).

A identificação de compostos antioxidantes redutores do íon férrico foi determinada por meio de metodologia descrita por Benzie e Strain (1996) adaptada para o leitor de microplacas.

Inicialmente, preparou-se uma solução estoque de Trolox a $300 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em água destilada, para utilização como antioxidante de referência e construção da curva de calibração. Em seguida, foi preparada uma solução tampão de acetato de sódio 0,3 M (pH 3,6), uma solução de ácido clorídrico 40 mM, solução de cloreto férrico ($\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 20 mM e uma solução TPTZ $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (2,4,6-trifidril-s-tiazina). Em seguida, 60 mL do tampão acetato foram misturados com 6 mL de solução TPTZ e 6 mL de solução de $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (nesta ordem), formando a solução FRAP. Todas as soluções utilizadas foram preparadas no mesmo período da análise. Os extratos foram diluídos em etanol de maneira a se obter uma concentração de $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, em seguida foram inseridos em um banho ultrassônico a 25°C por 30 min para auxiliar na diluição do extrato no solvente.

Por fim, $10 \mu\text{L}$ das amostras foram pipetadas para uma microplaca de 96 poços, juntamente com $290 \mu\text{L}$ da solução FRAP. O branco consistiu em $10 \mu\text{L}$ de água com $290 \mu\text{L}$ da solução FRAP. A mistura foi agitada e ficou em repouso durante 30 min, sob ausência de luz e, em seguida, suas absorbâncias foram lidas em um comprimento de onda de 593 nm no espectrofotômetro para microplacas. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$, por meio da curva de Trolox. As análises foram realizadas em triplicata.

3.5.3 Método de Descoloração do Sistema β -Caroteno

A atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico dos extratos de bagaço de tomate foi realizada de acordo com o método descrito por Matthäus (2002) e Kang et al. (2006). Para o preparo da emulsão β -caroteno/ácido linoleico, utilizou-se 3,4 mg de β -caroteno, aos quais foram adicionados $44 \mu\text{L}$ de ácido linoleico, 400 mg de Tween 20 e 5 mL de clorofórmio. O clorofórmio foi evaporado em rotaevaporador e 100 mL de água destilada foram acrescentados. Para o preparo da emulsão do branco, utilizou-se 400 mg de Tween 20, adicionado de $44 \mu\text{L}$ de ácido linoleico e 100 mL de água destilada.

Em tubos microtubo, 1 mL da solução do sistema β -caroteno foi adicionada a $40 \mu\text{L}$ de solução de extrato etanólico (os extratos foram previamente diluídos em etanol de maneira a se obter uma concentração de $1,67 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e, em seguida, foram inseridos em um banho ultrassônico a 25°C por 30 min para auxiliar na diluição do extrato no solvente). Para o controle, a amostra foi substituída por etanol. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (FEMTO 800XI, São Paulo, Brasil) a 470 nm. Os microtubos foram colocados em banho maria,

a 50 °C, e as leituras foram realizadas antes da incubação (t:0) e após (t:120 min). Os resultados de atividade antioxidante (AA %) foram calculados pela Equação 8 e expressos como média \pm desvio padrão.

$$AA (\%) = 1 - \left[\left(\frac{ABS_{Amostra\ Final} - ABS_{Amostra\ Inicial}}{ABS_{Controle\ Final} - ABS_{Controle\ Inicial}} \right) * 100 \right] \quad (8)$$

Onde: AA é a atividade antioxidante em porcentagem; $ABS_{Amostra\ Final}$ e $ABS_{Amostra\ Inicial}$ referem-se às absorbâncias da amostra no tempo 120 min e no tempo 0, respectivamente; $ABS_{Controle\ Final}$ e $ABS_{Controle\ Inicial}$ referem-se as absorbâncias do controle no tempo 120 min e no tempo 0, respectivamente.

3.5.4 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O perfil do licopeno foi realizado de acordo com o método descrito por Fagundes et al. (2015). Inicialmente foi realizada uma extração com acetona para uma amostra de bagaço de tomate seco em leito de jorro, com o objetivo de se obter um teor inicial de licopeno nas amostras, e a comparação com os resultados de licopeno obtidos nas técnicas de MAE, PLE e Soxhlet. Nesse contexto, pesou-se 2,5 g de bagaço de tomate seco em 20 mL de acetona. A extração foi realizada em agitador magnético por 1 h em temperatura ambiente, mantendo as amostras protegidas da luz. Os extratos foram filtrados em membrana de celulose sob vácuo, transferidos para tubos de centrífuga e adicionados a 20 mL de éter de petróleo e 10 mL de água destilada deionizada. A centrifugação foi realizada a 1,62 x g durante 10 min. Posteriormente, a solução foi transferida para um balão volumétrico, sendo o volume de 50 mL completado com éter de petróleo. Por fim, os solventes foram eliminados em um evaporador rotativo.

Os extratos obtidos pelas diferentes técnicas de extração foram dissolvidos em 2,5 mL de hexano e 10 μ L foram injetados em um cromatógrafo líquido (LC-10A, Shimadzu, Shimadzu do Brasil, São Paulo, Brasil) equipado com uma coluna C18 de fase reversa (Vydac 218TP54, 250 x 4,6 mm, diâmetro interno de 5 mm, 30 °C) e um detector de UV-vis operando a 470 nm. Metanol:acetonitrila (90:10, v/v) foi utilizada como fase móvel com vazão de $1,67 \times 10^{-2}$ mL s^{-1} . A identificação do licopeno foi feita comparando o tempo de retenção dos picos nas amostras com o do padrão analítico correspondente (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Alemanha). Para quantificar o licopeno nas amostras, foi construída uma curva padrão levando

em consideração os valores da área do pico do analito (FAGUNDES et al., 2015). A curva padrão gerou uma equação $Y = 1,76x$, $R^2 = 0,99$, e faixa de concentração de licopeno de 0–250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos em μg de licopeno/ g extrato, resultante do cálculo médio de três injeções consecutivas.

3.5.5 Análise de Variância (ANOVA)

Os resultados obtidos para as diferentes técnicas de extração, após as etapas preliminares de secagem por leito de jorro e estufa com circulação forçada de ar, em suas condições otimizadas, foram analisados estatisticamente por meio do Software STATISTICA 13.5 (StatSoft, Inc. v. 13.5.0.17, EUA), que permite a comparação dos valores médios usando o teste Tukey.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

O bagaço de tomate apresentou uma umidade inicial de 74,3 % sendo altamente perecível e próximo aos 70,0 % encontrados por Nour, Ionica e Trandafir (2015), porém, abaixo dos observados por Badaoui et al. (2018) e Al-Muhtaseb et al. (2010), de 88,5 e 95,0 %, respectivamente. Visando reduzir o teor de água, inativar enzimas, assegurar a estabilidade deteriorativa do bagaço e facilitar o processo de extração, é necessário o uso de técnicas preliminares, como a secagem, moagem e o peneiramento das amostras (AL-MUHTASEB et al., 2010; ANDREO; JORGE, 2006). Assim, após as etapas de secagem e moagem, os resultados da umidade e do diâmetro médio de partícula do bagaço de tomate podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 10 - Umidade e diâmetro médio da partícula do bagaço de tomate após as etapas de secagem e moagem.

Técnica de secagem	Umidade (% b.u.)	Diâmetro médio (mm)
Leito de Jorro	3,80 ± 0,20	0,48 ± 0,01
Estufa	4,60 ± 0,60	0,51 ± 0,01

Segundo Chitrakar, Zhang e Bhandari (2019) e Lavelli, Kerr e Sri Harsha (2013), a estabilidade microbiológica do bagaço de tomate pode ser garantida quando o produto possuir níveis de umidade inferiores a 15 g H₂O·100 g⁻¹ b.s. ($a_w \leq 0,6$). Nesse sentido, os produtos resultantes de ambas as técnicas de secagem (Tabela 10), podem ser considerados microbiologicamente estáveis. O diâmetro médio das partículas foi de 0,48 e 0,51 mm para a amostra seca em leito de jorro e seca em estufa, respectivamente. Os valores obtidos estão dentro da faixa recomendada por Belwal et al. (2018), os quais afirmam que as partículas devem possuir um tamanho variando de 100 µm a 2 mm para que haja uma maior área de superfície de contato entre a amostra e solvente, facilitando a penetração do solvente e aumentando a taxa de transferência de massa, resultando assim, em um maior rendimento de extração.

4.2 RESULTADOS DO PLANEJAMENTO BOX-BEHNKEN

4.2.1 Resultados do Planejamento Box-Behnken para MAE

Os níveis selecionados para os fatores e a matriz requerida para os experimentos Box-Behnken por MAE, junto aos resultados obtidos, expressos como rendimento de extração (%),

DPPH ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$), FRAP ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$) e descoloração do sistema β -Caroteno (%) podem ser observados na Tabela 11.

Tabela 11 – Resultados de extração obtidos para o delineamento experimental por MAE.

Ensaio	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes			
	(°C)	Etanol:Acetato	Tempo (min)	Y ₁ Rendimento (%)	Y ₂ DPPH ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	Y ₃ FRAP ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)	Y ₄ β -Caroteno (%)
1	50	10:90	3	3,83	8,63	13,02	22,40
2	90	10:90	3	5,40	14,05	18,52	36,19
3	50	90:10	3	3,95	9,69	15,93	33,96
4	90	90:10	3	6,42	15,06	24,52	39,82
5	50	50:50	1	4,50	8,85	12,13	22,84
6	90	50:50	1	6,64	11,92	14,50	27,60
7	50	50:50	5	4,76	10,39	14,76	24,30
8	90	50:50	5	6,16	13,17	15,84	32,47
9	70	10:90	1	4,73	11,11	15,78	26,78
10	70	90:10	1	4,84	12,78	18,45	32,31
11	70	10:90	5	4,92	12,54	17,99	32,20
12	70	90:10	5	5,27	13,49	22,27	34,78
13	70	50:50	3	5,08	11,58	14,11	26,53
14	70	50:50	3	5,32	11,12	13,33	27,60
15	70	50:50	3	5,42	11,28	13,39	28,40

Segundo Pinela et al. (2016), ajustar os modelos matemáticos gerados às respostas selecionadas é fundamental para elucidar com que precisão o modelo matemático pode prever as condições ideais. Nesse contexto, foram construídos modelos para cada resposta pelo ajuste do modelo polinomial de segunda ordem de Box-Behnken e a significância dos efeitos foi avaliada por meio da análise de variância (ANOVA). Valores de $p < 0,05$ indicam que a variável é significativa dentro do domínio experimental estudado, com um nível de confiança de 95% (PINELA et al., 2016). As Tabelas 12 a 15 apresentam os resultados da ANOVA para o rendimento de extração, DPPH, FRAP e β -Caroteno, respectivamente. Apenas os parâmetros significativos foram utilizados para a construção dos modelos.

Tabela 12 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para o rendimento de extração.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-	-	-	-	-	5,41
Temperatura (L) ^a	7,18	1	7,18	235,22	0,00	0,95
Solvente (Q) ^b	0,90	1	0,90	29,53	0,03	-0,49
Falta de Ajuste	0,97	10	0,10	3,19	0,26	-
Erro puro	0,06	2	0,03	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para o rendimento, foi gerada uma equação dada por: $Y_1 = 5,41 + 0,95 X_1 - 0,49 X_2^2$, onde, (X_1) é a temperatura em °C e (X_2) é a proporção de solvente utilizado. A equação obtida apresentou elevados coeficientes de adequação ($R^2 = 0,89$ e $R^2_{ajustado} = 0,87$). Segundo Ranic et al. (2014), o sinal do efeito (+ ou -) marca o desempenho da resposta e quanto maior o valor absoluto de um coeficiente, mais importante é o peso da variável correspondente. Nesse sentido, a temperatura é o fator mais significativo para a modelagem do rendimento. Além disso, não houve falta de ajuste ($p > 0,05$), o que indica que o modelo pode ser ajustado aos dados experimentais.

Figura 13 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 12 para o rendimento de extração.

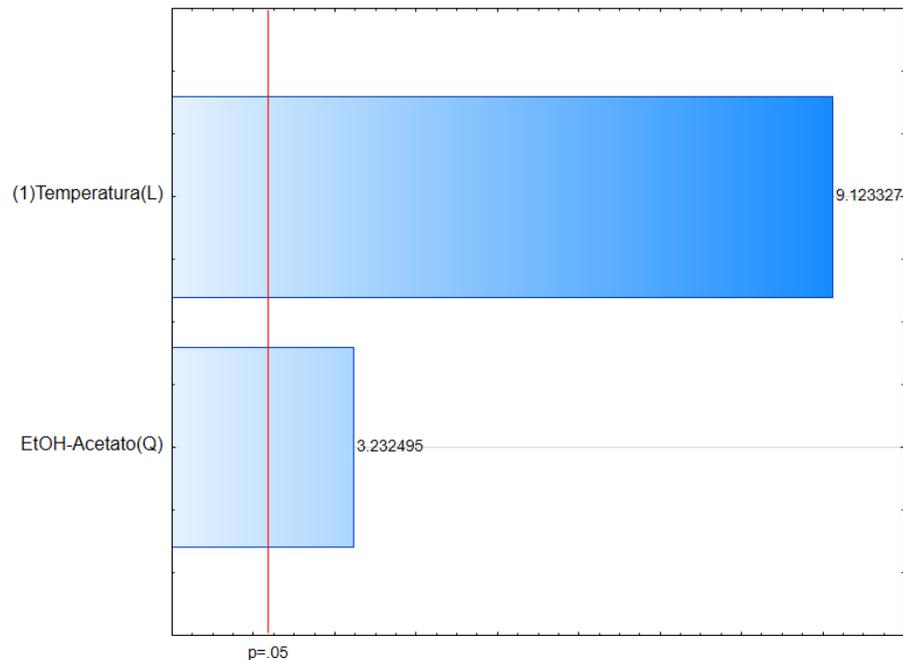


Tabela 13 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para a análise de DPPH.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-	-	-	-	-	11,19
Temperatura (L) ^a	37,65	1	37,65	700,31	0,00	1,46
Solvente (L) ^a	2,74	1	2,74	50,94	0,02	0,59
Solvente (Q) ^b	3,61	1	3,61	67,10	0,02	0,98
Tempo (L) ^a	3,04	1	3,04	56,57	0,02	0,62
T (L) x S (Q) ^b	3,06	1	3,06	56,91	0,02	1,24
Falta de Ajuste	1,12	7	0,16	2,98	0,28	-
Erro puro	0,11	2	0,05	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para a análise de DPPH, foi gerada uma equação dada por: $Y_2 = 11,19 + 1,46 X_1 + 0,59 X_2 + 0,98 X_2^2 + 0,62 X_3 + 1,24 X_1 * X_2^2$, onde, (X_1) é a temperatura em °C, (X_2) é a proporção de solvente utilizado e (X_3) é o tempo. A equação obtida apresenta um $R^2 = 0,97$ e um $R^2_{ajustado} = 0,96$. Todos os fatores descritos na Tabela 13, exceto a falta de ajuste, foram altamente significativos, sendo a temperatura e a interação entre temperatura e solvente, as mais significativas.

Figura 14 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 13 para a análise de DPPH.

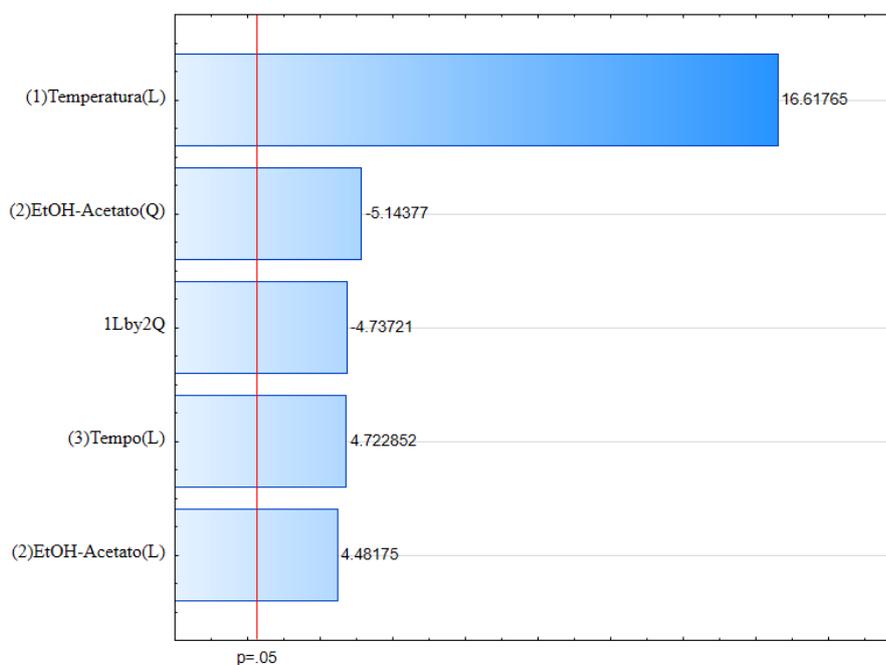


Tabela 14 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para a análise de FRAP.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-	-	-	-	-	14,01
Temperatura (L) ^a	50,04	1	50,04	261,78	0,00	0,86
Solvente (L) ^a	31,40	1	31,40	164,26	0,01	1,98
Solvente (Q) ^b	68,99	1	68,99	360,97	0,00	4,30
Tempo (L) ^a	12,48	1	12,48	65,31	0,02	1,25
T (L) ^a x S (Q) ^b	14,16	1	14,16	74,08	0,01	2,66
Falta de Ajuste	6,08	7	0,87	4,54	0,19	-
Erro puro	0,38	2	0,19	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para a análise de FRAP, foi gerada uma equação dada por: $Y_3 = 14,01 + 0,86 X_1 + 1,98 X_2 + 4,30 X_2^2 + 1,25 X_3 + 2,66 X_1 * X_2^2$, onde, (X_1) é a temperatura em °C, (X_2) é a proporção de solvente utilizado e (X_3) é o tempo. A equação obtida apresenta um $R^2 = 0,96$ e um $R^2_{ajustado} = 0,94$. Todos os fatores descritos na Tabela 14, exceto a falta de ajuste, foram altamente significativos, sendo o termo quadrático do solvente o mais significativo.

Figura 15 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 14 para a análise de FRAP.

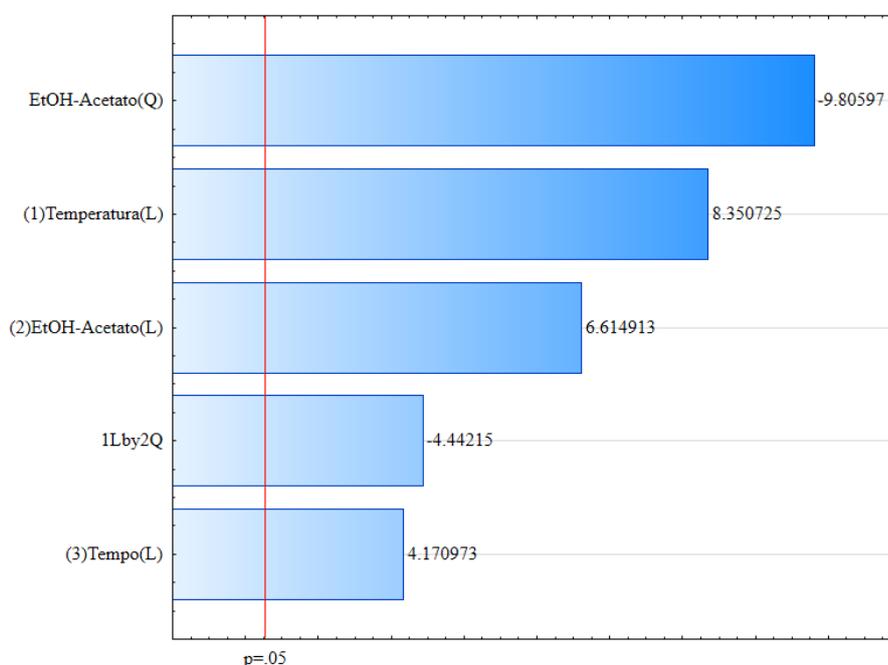


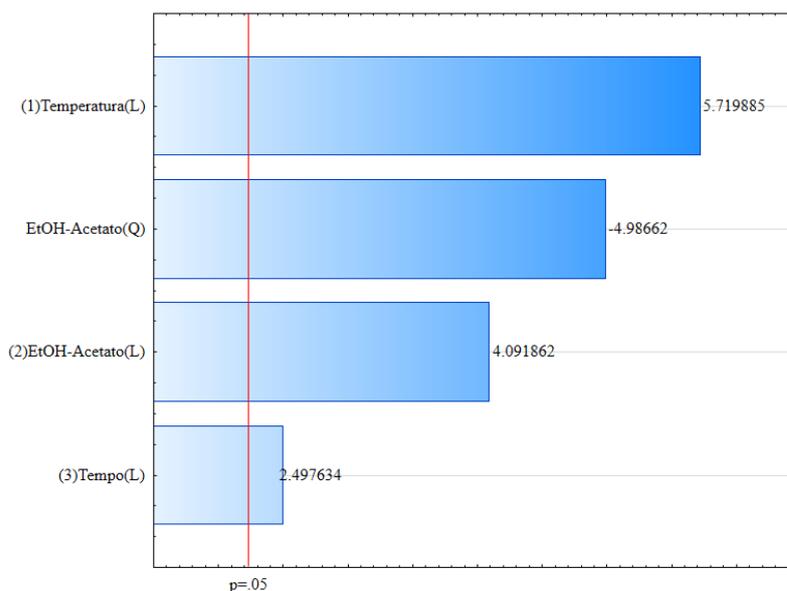
Tabela 15 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 11 para a análise de descoloração do β -Caroteno.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-		-	-	-	27,11
Temperatura (L) ^a	132,69	1	132,69	150,49	0,01	4,07
Solvente (L) ^a	67,91	1	67,91	77,01	0,01	2,91
Solvente (Q) ^b	100,85	1	100,85	114,38	0,01	5,20
Tempo (L) ^a	25,30	1	25,30	28,69	0,03	1,78
Falta de Ajuste	38,79	8	4,85	5,50	0,16	-
Erro puro	1,76	2	0,88	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para a análise de descoloração do β -Caroteno, foi gerada uma equação dada por: $Y_4 = 27,11 + 4,07 X_1 + 2,91 X_2 + 5,20 X_2^2 + 1,78 X_3$, onde, (X_1) é a temperatura em °C, (X_2) é a proporção de solvente utilizado e (X_3) é o tempo. A equação obtida apresenta um $R^2 = 0,89$ e um $R^2_{ajustado} = 0,85$. Todos os fatores descritos na Tabela 15, exceto a falta de ajuste, foram significativos, sendo o termo quadrático do solvente o mais significativo.

Figura 16 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 15 para a análise de β -Caroteno.

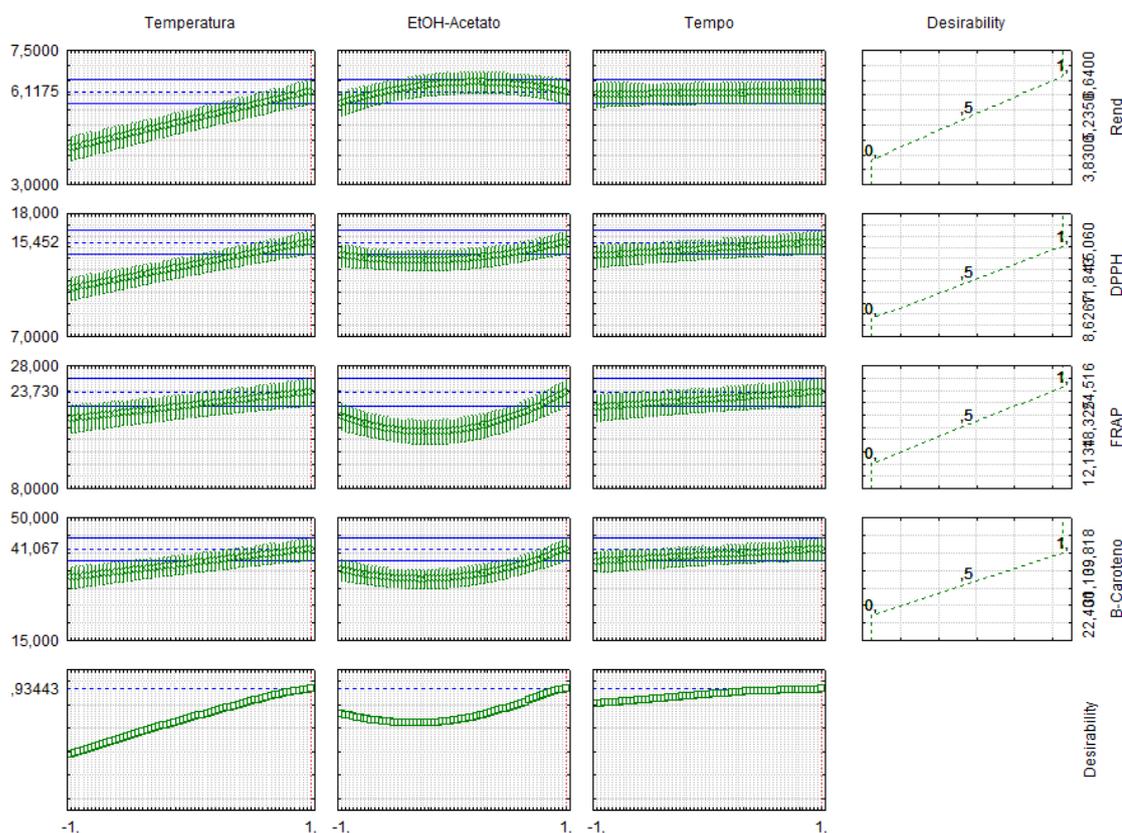


Para as análises de atividade antioxidante (DPPH, FRAP e descoloração do sistema β -Caroteno), é possível observar que a complexidade dos modelos de resposta desenvolvidos é muito semelhante, sendo o solvente utilizado como fator mais significativo, seguido da temperatura. Segundo Kappe, Dallinger e Murphree (2009), a eficiência do processo de extração por micro-ondas depende diretamente da capacidade do solvente em absorver a energia de micro-ondas e transmiti-la em forma de calor para a matriz, ou seja, do seu valor do fator dissipação. Nesse sentido, o etanol e o acetato de etila podem ser classificados como de alta e baixa absorção de energia de micro-ondas, respectivamente (KAPPE; DALLINGER; MURPHREE, 2009), o que explicaria o fato de o solvente ser o fator mais significativo para a modelagem matemática. Além disso, a temperatura empregada pode ocasionar o rompimento das membranas e paredes celulares, liberando compostos antioxidantes da porção insolúvel do bagaço de tomate e assim, tornando a extração mais eficiente (DEHGHAN-SHOAR et al., 2011; SIRIAMORNUN; KAISOON; MEESO, 2012).

Com base nas expressões matemáticas, as respostas da atividade antioxidante foram mais complexas do que a encontrada para o rendimento, no entanto, a temperatura e solvente continuam sendo os mais significativos. Segundo Pinela et al. (2016), a complexidade das equações matemáticas geradas em planejamentos experimentais para a atividade antioxidante está relacionada ao fato de que a atividade antioxidante depende da contribuição global de diferentes compostos, incluindo interações entre eles, e não apenas de uma única molécula que poderia ser determinada por CLAE.

O gráfico com os valores preditos e a desejabilidade global do sistema pode ser observado na Figura 17. A partir da Figura 17, é possível observar que dentro do domínio experimental estudado, há condições para se obter uma resposta máxima do sistema, com uma desejabilidade global de 0,93.

Figura 17 - Gráfico com valores preditos e desejabilidade global do sistema. Temperatura; EtOH-Acetato: proporção de solvente; Tempo; Rend = rendimento; DPPH; FRAP e β -Caroteno = descoloração do sistema β -Caroteno.



De acordo com a Figura 17, as condições operacionais que maximizam a obtenção de extratos com potencial antioxidante por MAE são: temperatura de 90 °C; 90 % de etanol e 10 % de acetato de etila; 5 min de operação. Entretanto, como descrito na Tabela 16, os valores preditos e os observados no Ponto 4 (90 °C; 90:10 de Etanol:Acetato; 3 min) do planejamento experimental são muito semelhantes, havendo uma diminuição no teor de rendimento do processo e na atividade antioxidante por FRAP. Este fenômeno poderia ser explicado por estar se trabalhando na região ótima de extração (dentro do intervalo de confiança – IC 95%), resultando em ajustes muito pequenos nas condições empregadas para se chegar na condição ótima de extração. Pinela et al. (2016), ao estudarem a extração de compostos antioxidantes do tomate liofilizado por MAE, observaram algumas condições de otimização similares a pontos do planejamento, além disso, observaram que em sua condição ótima, houve uma diminuição no teor da atividade antioxidante. Desta forma, no presente estudo, optou-se por escolher as

condições de extração do Ponto 4 do planejamento por Box-Behnken (MAE), como a condição ótima de extração de compostos antioxidantes do bagaço de tomate.

Tabela 16 – Valores preditos pela função desejabilidade e observados no Ponto 4 do delineamento experimental para o MAE.

Fatores	R ²	R ² _{ajustado}	Predito	Intervalo de Confiança (IC)	Observado no Ponto 4	Erro (%)
Rendimento (%)	0,92	0,89	6,12	5,70-6,53	6,42	-4,97
DPPH (μmol·g ⁻¹)	0,97	0,96	15,45	14,42-16,48	15,06	2,54
FRAP (μmol·g ⁻¹)	0,88	0,83	23,73	21,47-25,99	24,52	-3,31
β-Caroteno (%)	0,89	0,85	41,07	37,89-44,24	39,82	3,04

4.2.2 Resultados do Planejamento Box-Behnken para PLE

Os níveis selecionados para os fatores e a matriz requerida para os experimentos Box-Behnken por PLE, junto aos resultados obtidos, expressos como rendimento de extração (%), DPPH (μmol TEAC·g⁻¹), FRAP (μmol TEAC·g⁻¹) e descoloração do sistema β-Caroteno (%) podem ser observados na Tabela 17.

Tabela 17 - Resultados de extração obtidos para o delineamento experimental por PLE.

Ensaio	Variáveis Independentes			Variáveis Dependentes			
	(°C)	Etanol:Acetato	Tempo (min)	Y ₁ Rendimento (%)	Y ₂ DPPH (μmol·g ⁻¹)	Y ₃ FRAP (μmol·g ⁻¹)	Y ₄ β-Caroteno (%)
1	50	10:90	5	7,71	13,32	6,15	23,31
2	90	10:90	5	9,83	18,33	25,51	40,23
3	50	90:10	5	11,76	10,19	5,86	19,70
4	90	90:10	5	16,61	14,91	16,82	26,69
5	50	50:50	2	12,62	11,56	9,23	31,15
6	90	50:50	2	15,18	19,10	22,01	46,51
7	50	50:50	8	11,31	11,56	5,64	37,76
8	90	50:50	8	13,32	13,36	8,34	39,65
9	70	10:90	2	11,34	14,98	20,02	44,77
10	70	90:10	2	15,73	13,22	14,39	30,90
11	70	10:90	8	9,84	13,36	18,51	40,23
12	70	90:10	8	15,63	10,17	13,67	27,02
13	70	50:50	5	11,85	11,45	21,71	25,92
14	70	50:50	5	11,44	9,87	20,69	28,45
15	70	50:50	5	11,49	9,97	20,97	28,76

As Tabelas 18 a 21 apresentam os resultados da ANOVA para o rendimento de extração, DPPH, FRAP e β -Caroteno, respectivamente. Apenas os parâmetros significativos foram utilizados para a construção dos modelos.

Tabela 18 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para o rendimento de extração.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-	-	-	-	-	11,53
Temperatura (L) ^a	16,65	1	16,65	332,71	0,00	1,44
Solvente (L) ^a	55,18	1	55,18	1102,82	0,00	2,63
Vazão (L) ^a	2,84	1	2,84	56,84	0,02	-0,60
Vazão (Q) ^b	9,49	1	9,49	189,62	0,01	1,59
T (L) ^a x S (L) ^b	1,86	1	1,86	37,24	0,03	0,68
Falta de Ajuste	1,67	7	0,24	4,77	0,18	-
Erro puro	0,10	2	0,05	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para o rendimento, foi gerada uma equação dada por: $Y_1 = 11,53 + 1,44 X_1 + 2,63 X_2 - 0,60 X_3 + 1,59 X_3^2 + 0,68 X_1 \cdot X_2$, onde, (X_1) é a temperatura em °C, (X_2) é a proporção de solvente utilizado e (X_3) é a vazão do processo. A equação obtida apresenta um $R^2 = 0,98$ e um $R^2_{ajustado} = 0,97$. Nesse sentido, o solvente é o fator mais significativo para a modelagem do rendimento, seguido da vazão quadrática e temperatura. Além disso, não houve falta de ajuste, o que indica que o modelo pode ser ajustado aos dados experimentais.

Figura 18 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 18 para o rendimento de extração.

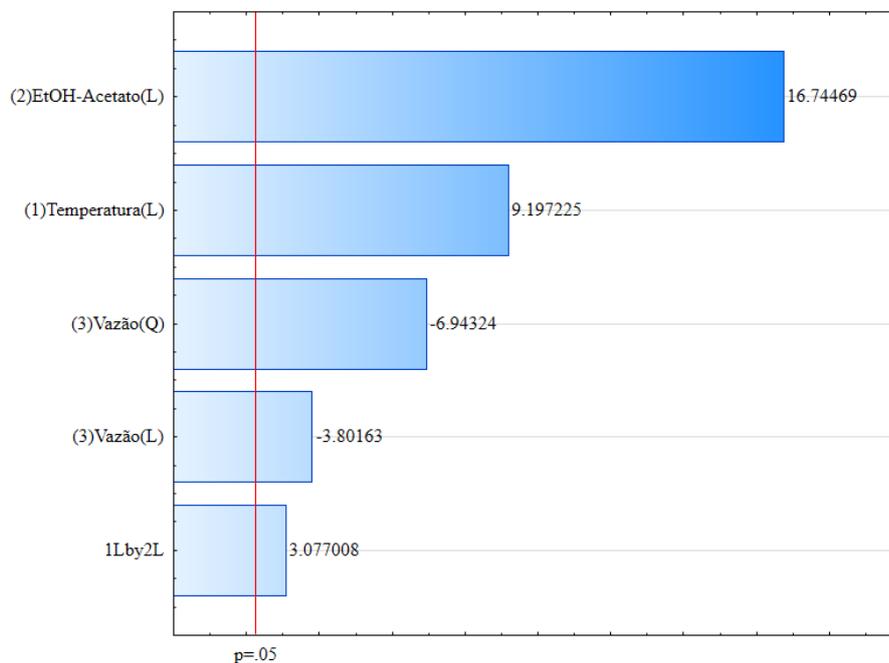


Tabela 19 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para a análise de DPPH.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-	-	-	-	-	11,86
Temperatura (L) ^a	45,51	1	45,51	57,94	0,02	2,39
Temperatura (Q) ^b	17,76	1	17,76	22,61	0,04	2,18
Solvente (L) ^a	16,50	1	16,50	21,01	0,04	-1,44
Vazão (L) ^a	13,58	1	13,58	17,29	0,03	-1,30
Falta de Ajuste	20,12	8	2,52	3,20	0,26	-
Erro puro	1,57	2	0,79	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para a análise de DPPH, foi gerada uma equação dada por: $Y_2 = 11,86 + 2,39 X_1 + 2,18 X_1^2 - 1,44 X_2 - 1,30 X_3$, onde, (X_1) é a temperatura em °C, (X_2) é a proporção de solvente utilizado e (X_3) é a vazão do processo. A equação obtida apresenta um $R^2 = 0,81$ e um $R^2_{ajustado} = 0,74$. Nesse sentido, a temperatura linear e quadrática são os fatores mais significativos.

Figura 19 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 19 para a análise de DPPH.

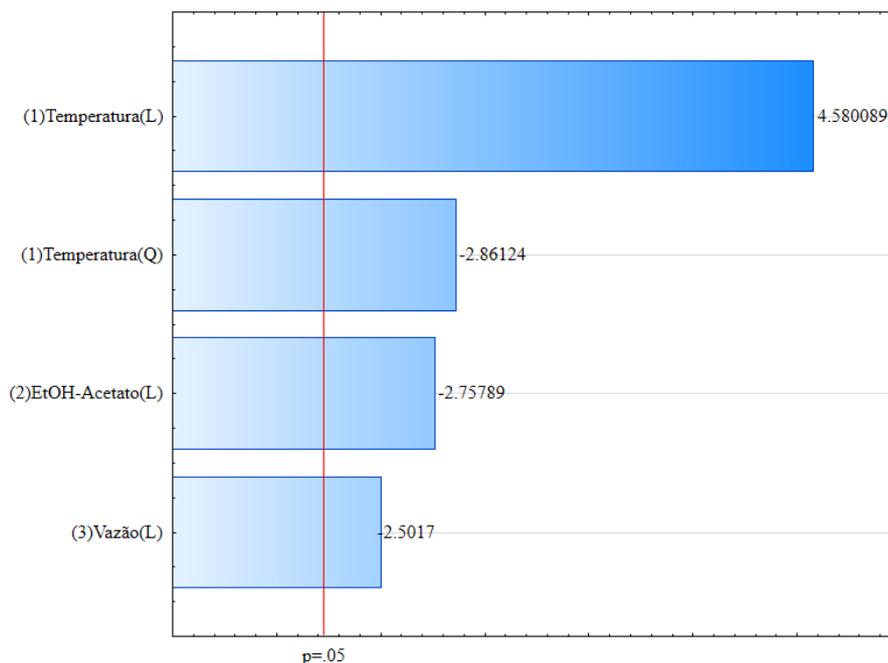


Tabela 20 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para a análise de FRAP.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-	-	-	-	-	20,45
Temperatura (L) ^a	289,76	1	289,76	1036,57	0,00	3,87
Temperatura (Q) ^b	150,07	1	150,07	536,83	0,00	-6,36
Solvente (L) ^a	47,36	1	47,36	169,41	0,01	-2,43
Vazão (L) ^a	67,56	1	67,56	241,68	0,00	-0,56
Vazão (Q) ^b	40,30	1	40,30	144,17	0,01	-3,29
T (L) ^a x S (L) ^a	17,66	1	17,66	63,16	0,02	-2,10
T (L) ^a x S (Q) ^b	27,52	1	27,52	98,45	0,01	3,71
T (L) ^a x V (L) ^a	25,42	1	25,42	90,94	0,01	-2,52
T (Q) ^b x V (L) ^a	28,31	1	28,31	101,29	0,01	-3,76
Falta de Ajuste	4,90	3	1,63	5,85	0,15	-
Erro puro	0,56	2	0,28	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para a análise de FRAP, foi gerada uma equação dada por: $Y_3 = 20,45 + 3,87 X_1 - 6,36 X_1^2 - 2,43 X_2 - 0,56 X_3 - 3,29 X_3^2 - 2,10 X_1 \cdot X_2 + 3,71 X_1 \cdot X_2^2 - 2,52 X_1 \cdot X_3 - 3,76 X_1^2 \cdot X_3$, onde, (X_1) é a temperatura em °C, (X_2) é a proporção de solvente utilizado e (X_3) é a vazão. A equação obtida apresenta um $R^2 = 0,99$ e um $R^2_{ajustado} = 0,98$. Todos os fatores descritos na Tabela 20,

exceto a falta de ajuste, foram altamente significativos, sendo o termo quadrático da temperatura o mais significativo.

Figura 20 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 20 para a análise de FRAP.

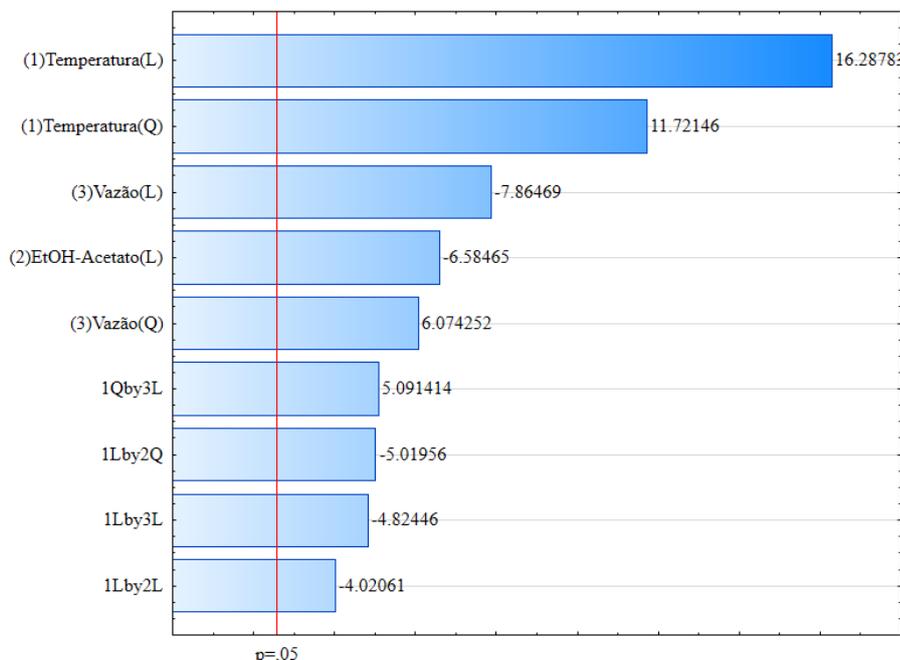


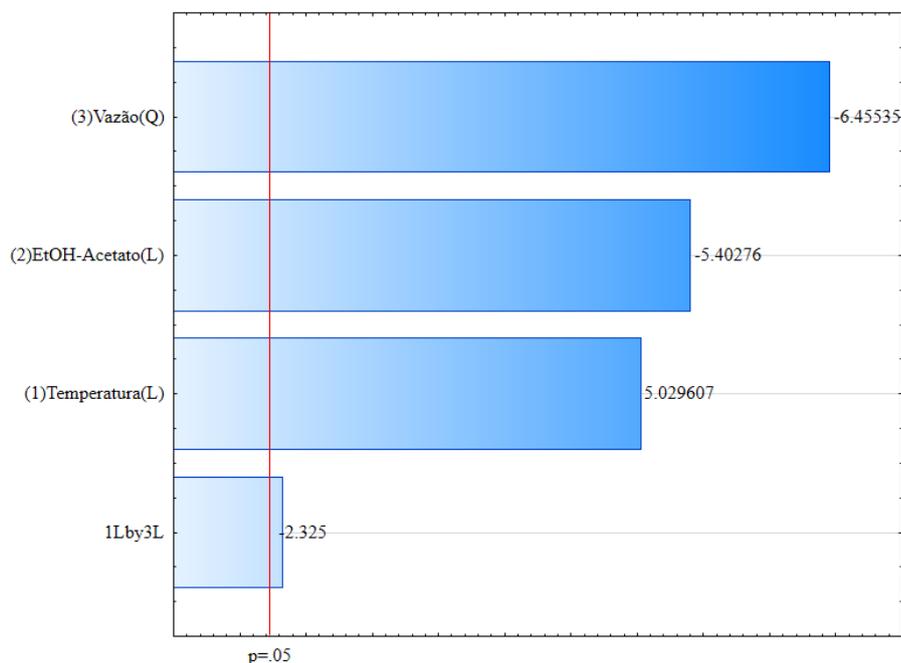
Tabela 21 – ANOVA dos dados apresentados na Tabela 17 para a análise de β -Caroteno.

Fatores	SQ	GL	MQ	F	p	Coef. Regressão
Intercepto	-	-	-	-	-	27,58
Temperatura (L) ^a	211,84	1	211,84	87,45	0,01	5,15
Solvente (L) ^a	244,44	1	244,44	100,90	0,01	-5,53
Vazão (Q) ^b	348,96	1	348,96	144,05	0,01	9,67
T (L) ^a x V (L) ^a	45,27	1	45,27	18,69	0,05	-3,36
Falta de Ajuste	78,90	8	9,86	4,07	0,21	-
Erro puro	4,85	2	2,42	-	-	-

Onde: ^a (L) = Termo linear; ^b (Q) = Termo quadrático.

Para a análise de descoloração do β -Caroteno, foi gerada uma equação dada por: $Y_4 = 27,58 + 5,15 X_1 - 5,53 X_2 + 9,67 X_3^2 - 3,36 X_1 * X_3$, onde, (X_1) é a temperatura em °C, (X_2) é a proporção de solvente utilizado e (X_3) é a vazão. A equação obtida apresenta um $R^2 = 0,91$ e um $R^2_{ajustado} = 0,88$. Todos os fatores descritos na Tabela 21, exceto a falta de ajuste, foram significativos, sendo o termo quadrático da vazão o mais significativo.

Figura 21 – Gráfico de Pareto dos dados apresentados na Tabela 21 para a análise de β -Caroteno.



A complexidade dos modelos de resposta desenvolvidos é muito semelhante. Todos apresentam uma combinação de coeficientes lineares e quadráticos e apenas o modelo para o DPPH não apresenta interações significativas. Para o rendimento, o solvente e a vazão foram os fatores mais significativos. Segundo Mustafa e Turner (2011), a mistura de solventes pode melhorar a solubilidade e aumentar a interação do analito alvo com o solvente de extração, aumentando o rendimento do processo, o que justificaria o fato de o solvente ser o fator mais significativo para a modelagem matemática. Além disso, o uso de vazões baixas proporciona maior penetração do solvente nos nano e micro poros da matriz, devido ao maior tempo de contato entre as fases, sem causar uma saturação do solvente, aumentando o rendimento de extração (MUSTAFA; TURNER, 2011; NIETO et al., 2010).

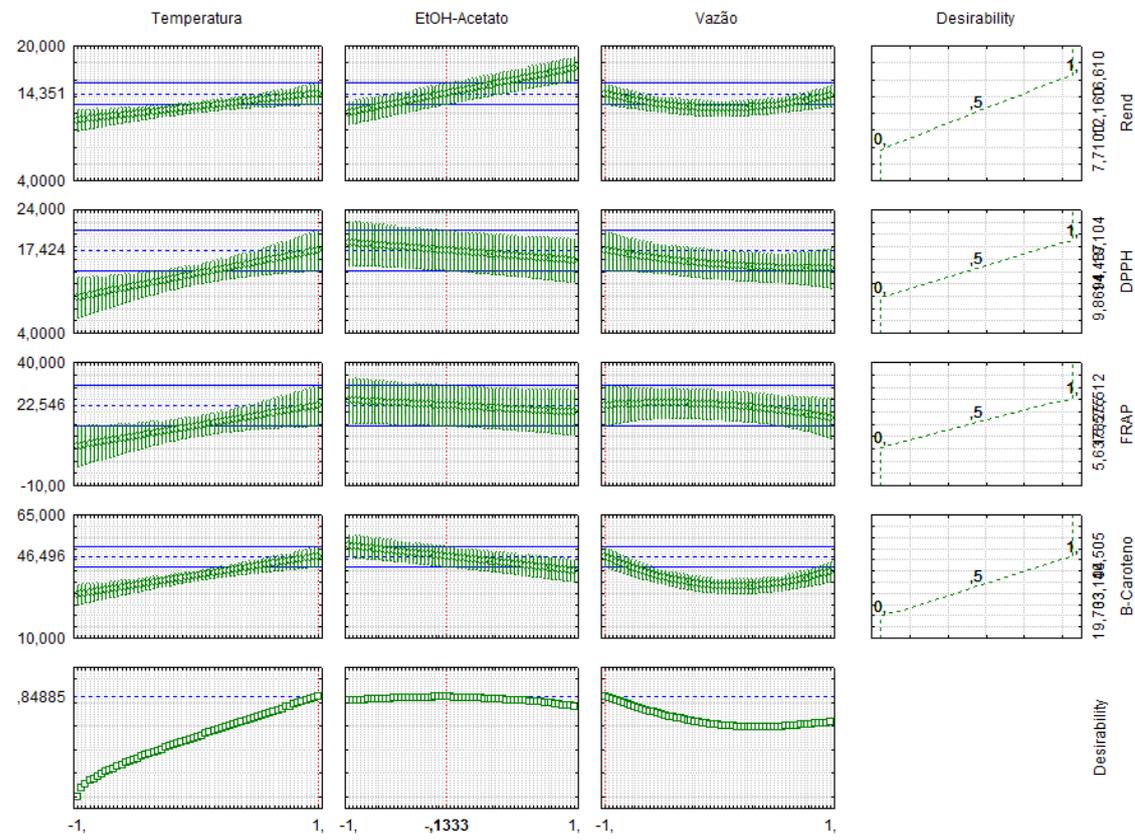
Para os antioxidantes, a vazão e a temperatura foram os fatores mais significativos. O que poderia ser justificado pelo fato de vazões baixas proporcionarem maior penetração do solvente nos nano e micro poros da matriz, podendo aumentar a extração de compostos antioxidantes. Nesse contexto, a temperatura pode afetar as propriedades de transferência de massa, modificando a tensão superficial, difusividade e viscosidade do solvente,

proporcionando uma maior taxa de transferência de massa. Além disso, a temperatura empregada pode ocasionar o rompimento das membranas e paredes celulares, liberando compostos antioxidantes da porção insolúvel do bagaço de tomate, aumentando a extração desses compostos (DEHGHAN-SHOAR et al., 2011; MUSTAFA; TURNER, 2011; NIETO et al., 2010; SIRIAMORNUN; KAISOON; MEESO, 2012).

Com base nas expressões matemáticas, as respostas do planejamento por PLE foram mais complexas que as encontradas no planejamento por MAE. Este comportamento poderia ser relacionado ao fato de que nas PLE, houve uma maior liberação e extração de compostos antioxidantes da porção insolúvel do bagaço de tomate. Nesse sentido, segundo Pinela et al. (2016), a determinação da atividade antioxidante depende da contribuição global de diferentes compostos, incluindo interações entre eles, e não apenas de uma única molécula, o que poderia justificar a maior complexidade das equações matemáticas geradas no planejamento PLE.

O gráfico com os valores preditos e a desejabilidade global do sistema pode ser observado na Figura 22. A partir da Figura 22, é possível observar que dentro do domínio experimental estudado, há condições para se obter uma resposta máxima do sistema, com uma desejabilidade global de 0,85.

Figura 22 - Gráfico com valores preditos e desejabilidade global do sistema. Temperatura; EtOH-Acetato: proporção de solvente; Vazão; Rend = rendimento; DPPH; FRAP e β -Caroteno = descoloração do sistema β -Caroteno.



De acordo com a Figura 22, as condições operacionais que maximizam a obtenção de extratos com potencial antioxidante por PLE são: temperatura de 90 °C; 44,7% de etanol - 55,3% de acetato de etila e vazão de 2 mL·min⁻¹. Entretanto, como descrito na Tabela 22, os valores preditos e os observados no Ponto 6 (90 °C; 50:50 de Etanol:Acetato; 2 mL·min⁻¹) do planejamento experimental são muito semelhantes, havendo uma diminuição no teor de rendimento do processo e na atividade antioxidante por DPPH e β -Caroteno, entre os valores preditos no ponto ótimo e os observados no Ponto 6. Este fenômeno pode ser explicado por já estarmos trabalhando na região ótima de extração (dentro do intervalo de confiança – IC 95%), resultando em ajustes muito pequenos nas condições empregadas para se chegar na condição ótima de extração. Desta forma, no presente estudo, optou-se por escolher as condições de

extração do Ponto 6 do planejamento por Box-Behnken do PLE, como a condição ótima de extração de compostos antioxidantes do bagaço de tomate.

Tabela 22 – Valores preditos pela função desejabilidade e observados no Ponto 6 do delineamento experimental para o PLE.

Fatores	R ²	R ² ajustado	Predito	Intervalo de Confiança (IC)	Observado no Ponto 6	Erro (%)
Rendimento (%)	0,93	0,90	14,35	13,09-15,62	15,18	-5,76
DPPH (μmol·g ⁻¹)	0,63	0,49	17,42	14,18-20,67	19,10	-9,64
FRAP (μmol·g ⁻¹)	0,57	0,40	22,55	14,24-30,85	22,01	2,36
β-Caroteno (%)	0,91	0,88	46,49	41,93-51,06	46,51	-0,02

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS EM CONDIÇÕES OTIMIZADAS

Os resultados obtidos para as diferentes técnicas de extração após as etapas preliminares de secagem por leito de jorro e estufa com circulação forçada de ar, em suas condições otimizadas, expressos como rendimento de extração (%), DPPH (μmol TEAC·g⁻¹), FRAP (μmol TEAC·g⁻¹), descoloração do sistema β-Caroteno (%) e licopeno (μg licopeno·g⁻¹ de extrato) podem ser observados na Tabela 23.

Tabela 23 – Resultados obtidos para as diferentes técnicas de secagem em suas condições otimizadas de extração.

Código	Rendimento (%)	DPPH (μmol·g ⁻¹)	FRAP (μmol·g ⁻¹)	β-Caroteno (%)	Licopeno (μg·g ⁻¹)	
Jorro	MAE	6,42±0,25 ^e	15,06±0,48 ^d	24,52±0,56 ^e	39,82±0,35 ^b	59,66±0,42 ^a
	PLE	15,18±0,22 ^d	19,10±0,23 ^b	22,01±0,72 ^f	46,51±0,70 ^a	20,09±0,88 ^c
	Soxhlet (Et-OH)	21,01±0,03 ^b	16,37±0,28 ^c	30,03±0,53 ^c	23,80±0,35 ^f	10,75±0,77 ^e
	Soxhlet (Acetato)	15,72±0,02 ^d	18,43±0,29 ^b	43,37±0,18 ^a	33,46±0,23 ^d	14,88±0,75 ^d
Estufa	MAE	7,15±0,55 ^e	12,04±0,33 ^e	12,02±0,40 ^h	29,79±0,33 ^e	26,03±0,54 ^b
	PLE	16,91±0,06 ^c	21,44±0,42 ^a	26,55±0,56 ^d	36,44±0,47 ^c	7,30±0,81 ^f
	Soxhlet (Et-OH)	23,68±0,39 ^a	11,18±0,36 ^f	17,97±0,50 ^g	20,68±0,66 ^g	5,66±0,52 ^g
	Soxhlet (Acetato)	20,66±0,35 ^b	16,75±0,49 ^c	37,71±0,76 ^b	29,05±0,58 ^e	6,79±0,15 ^{f,g}

Na coluna, médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si, de acordo com o Teste de Tukey a 5% de significância.

De acordo com a Tabela 23, é possível notar que houve diferença estatística entre as diferentes técnicas de secagem empregadas, as amostras secas em estufa com circulação de ar, apresentaram, em média, um maior rendimento de extração, entretanto, menores teores de atividade antioxidante e de licopeno. Apesar de Doymaz (2007) ter concluído que a temperatura de secagem de 70 °C era a mais recomendada para o processo, uma vez que apresentou o maior coeficiente de difusividade e Demiray, Tulek e Yilmaz (2013) relataram que o licopeno e outros compostos antioxidantes eram estáveis em secagem com temperatura de até 70 °C, o longo período da secagem para o processo em estufa pode ter causado a degradação excessiva dos compostos bioativos da amostra de bagaço de tomate quando comparado com a secagem em leito de jorro. Segundo Mujumdar (2006), o secador do tipo leito de jorro destaca-se por gerar altas taxas de transferência de calor e de massa ao longo do processo, possibilitando a utilização de temperaturas mais altas e a residência do produto no leito por um curto período de tempo, evitando a degradação acentuada de compostos termicamente sensíveis, como ocorre em métodos de secagem convencionais. Desta forma, nota-se que a técnica de secagem em leito de jorro é a mais recomendada para a secagem do bagaço de tomate, uma vez que houve uma maior preservação dos compostos de interesse.

Observando os resultados das extrações por Soxhlet apresentados na Tabela 23, nota-se que a utilização do etanol como solvente de extração possibilitou a obtenção de uma maior quantidade de compostos da matriz, resultando em um maior rendimento. Este comportamento poderia ser justificado pela diferença de polaridade do etanol e do acetato de etila. Segundo Widyawati et al. (2014), o etanol pode ser mais eficaz para a extração de compostos de alta e média polaridade, como açúcares, aminoácidos, esteróis, glicosídicos e taninos, substâncias normalmente presentes em maior quantidade nas matrizes vegetais, em comparação com os compostos antioxidantes. Entretanto, nota-se na Tabela 23 que nas extrações por Soxhlet com acetato de etila foram obtidos maiores teores de licopeno, estando de acordo com o descrito por Pandya et al. (2017), os quais relatam que o licopeno apresenta maior solubilidade em acetato de etila do que no etanol. Nesse contexto, houve também uma maior atividade antioxidante nas extrações por Soxhlet com acetato de etila, o que poderia ser justificado pela alta atividade antioxidante do licopeno (DI MASCIO; KAISER; SIES, 1989) e pela maior extração de compostos de média polaridade pelo acetato de etila como alcaloides, agliconas, glicosídeos, esteróis, terpenóides e flavonoides (WIDYAWATI et al., 2014).

De acordo com a Tabela 23, os valores de atividade antioxidante foram estatisticamente diferentes entre si, demonstrando que cada técnica de extração empregada resultou extratos com constituições diferentes, sendo os extratos obtidos por PLE os que apresentaram os maiores teores de atividade antioxidante. Nesse sentido, a alta temperatura empregada na técnica de PLE (90 °C) pode favorecer o rompimento de interações coesivas (molécula-moléculas) e adesivas (analito-matriz), além de reduzir a viscosidade e a tensão superficial do solvente, e a energia de ativação necessária para o processo de dessorção do analito da matriz para o solvente, facilitando sua entrada nos poros da matriz e favorecendo a extração dos compostos de interesse (MUSTAFA; TURNER, 2011).

Como descrito por Pinela et al. (2016), a determinação da atividade antioxidante depende da contribuição global de diferentes compostos, incluindo interações entre eles e não apenas de uma única molécula. Nesse sentido, este fenômeno também pode estar relacionado com a formação de substâncias bioativas durante os diferentes processos de extração, como os compostos neoantioxidantes que podem ser derivados da reação de Maillard, caramelização e/ou termooxidação, sendo previamente descrito na literatura (AHMAD; LANGRISH, 2012; AMAROWICZ, 2009; BRUDZYNSKI; MIOTTO, 2011; MAZZUTTI et al., 2017; PLAZA et al., 2010a; PLAZA et al., 2010b; PLAZA; TURNER, 2015). Segundo Plaza et al. (2010a), a utilização de altas temperaturas em processos de extração pode favorecer a formação de neoantioxidantes por meio de produtos da reação de Maillard e produtos de caramelização; além disso, deve-se levar em conta os compostos fenólicos, pois estes podem modular a ocorrência e intensidade das reações de Maillard e caramelização, influenciando na bioatividade final dos extratos. De acordo com Del Valle, Camara e Torija (2006), o bagaço de tomate apresenta 19,3% de proteínas totais e 25,7% de açúcares totais (em base seca), sendo constituído majoritariamente por açúcares redutores; estes são os compostos necessários para a reação de Maillard, aliado às altas temperaturas empregadas. Portanto, é possível supor que houve a formação de neoantioxidantes durante as etapas de extração. Esta possibilidade poderia aumentar o interesse pela extração de compostos bioativos do bagaço de tomate, uma vez que seria possível não só recuperar antioxidantes presentes na amostra, mas também permitir a geração de novos compostos antioxidantes.

Segundo Lavelli e Torresani (2011), o licopeno é sensível a luz, altas temperaturas e alguns ácidos orgânicos, podendo sofrer degradação e/ou isomerização nestas condições. Nesse

estudo, o bagaço de tomate seco em leito de jorro apresentou um teor de $89,14 \pm 0,56 \mu\text{g licopeno}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato quando extraído com acetona, tornando assim o valor de licopeno de referência. Então, de acordo com a Tabela 23, é possível observar uma grande diminuição nos teores de licopeno dos diferentes extratos das amostras secas em estufa, o que poderia ser justificado pelo elevado tempo de secagem, 12 h, enquanto que a secagem em leito de jorro teve duração de 1,5 h. Segundo Baslar et al. (2014) e Karasu et al. (2015), em processos de secagem é comum que amostras secas em temperaturas mais altas e em menor tempo apresentem maior quantidade de compostos termossensíveis, uma vez que a degradação de compostos termossensíveis é principalmente afetada pelo tempo de secagem. Nesse sentido, os extratos obtidos por Soxhlet apresentaram os menores teores de licopeno, o que poderia ser justificado pelas elevadas temperaturas de processo, possivelmente acima da temperatura de ebulição do solvente e o longo tempo de extração (6 h).

Os extratos obtidos por PLE apresentaram menores teores de licopeno quando comparado com os extratos obtidos por micro-ondas (Tabela 23). Este comportamento poderia ser relacionado com o maior tempo de processo (50 min) quando comparado com o micro-ondas (3 min) e isso pode ter ocasionado uma maior degradação do licopeno presente na amostra. Por outro lado, a técnica de extração assistida por micro-ondas foi responsável por obter o maior teor de licopeno deste estudo, $59,66 \mu\text{g licopeno}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato, o que representa uma taxa de recuperação de licopeno de 66,93%, em apenas 3 min de extração, na comparação com o valor de licopeno de referência citado anteriormente ($89,14 \mu\text{g licopeno}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato). Até o momento, não foram encontrados dados na literatura sobre a taxa de recuperação de licopeno do bagaço de tomate pelas técnicas de MAE ou PLE, portanto, para efeito de comparação, foram analisados os resultados de outras técnicas disponíveis na literatura.

A principal técnica não convencional empregada para extração de licopeno do tomate é a extração com fluidos supercríticos (EFS), sendo uma tecnologia verde, porém de alto custo de investimento (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2011). Por meio desta técnica já foram relatadas taxas de recuperação de licopeno variando de 52 a 93% (BAYZAL; ERSUS; STARMANS, 2000; EGYDIO; MORAES; ROSA, 2010; HATAMI; MEIRELES; CIFTCI, 2019; KEHILI et al., 2017; MACHMUDAH et al., 2012; NOBRE et al., 2009; ROZZI et al., 2002; SABIO et al., 2003; VÁGI et al., 2007), entretanto, nestes trabalhos foram utilizadas pressões variando de 30 a 50 MPa, o que pode aumentar os custos de processo. Além da técnica

de EFS, encontra-se na literatura alguns dados de recuperação de licopeno do tomate por outras técnicas, como a descrita por Amiri-Rigi e Abbasi (2019), que utilizaram a técnica de microemulsão e encontraram uma taxa de recuperação de licopeno variando de 63 a 88%; Lianfu e Zelong (2008), de 89,4 a 97,4 % para a técnica de extração assistida por ultrassom e micro-ondas; Naviglio et al. (2008) variando de 8,5 a 19,5 % utilizando a técnica de água pressurizada; e Poojary e Passamonti (2015), de 65,2 a 75,8 %, por meio de extração com solventes orgânicos, demonstrando que os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os obtidos por outros autores em outras técnicas de extração.

A extração assistida por micro-ondas representa um importante desenvolvimento no campo da química verde. De fato, um dos maiores desafios para melhorar a sustentabilidade da indústria química é estabelecer processos mais ecológicos para a obtenção de compostos de alto valor agregado como o licopeno (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012). Segundo Vinatoru, Mason e Calinescu (2017), a extração por micro-ondas gera um aquecimento rápido e uniforme, maior rendimento, menor tempo, menor consumo de solventes e menor consumo de energia, comparado com os métodos convencionais de extração. Dessa forma, os fatores de economia de energia e tempos de processamento curtos levam à redução dos custos de processo e melhoria da uniformidade e rendimento do produto, resultando em produtos de maior qualidade em comparação com técnicas convencionais de extração (VEGGI; MARTINEZ; MEIRELES, 2012). Neste estudo, o extrato obtido por micro-ondas apresentou um percentual de recuperação de licopeno semelhante ao de outras técnicas de extração disponíveis na literatura, destacando-se por utilizar um tempo extremamente curto (3 min). Por exemplo, caso fosse empregada uma técnica de purificação do extrato obtido, seriam necessários 16,76 g de extrato (261,1 g de bagaço de tomate seco) para produzir 1 mg de licopeno puro, um composto de alto valor agregado, uma vez que um produto semelhante pode ser encontrado no mercado por R\$ 782,00 (site oficial da Sigma-Aldrich, acesso em 25 de janeiro de 2021) demonstrando a viabilidade do estudo de diferentes processos de secagem e extração de compostos bioativos do bagaço de tomate. Nesse sentido, o presente estudo, ao utilizar um subproduto e solventes verdes, oferece uma alternativa viável para um processo de extração de licopeno de forma segura, mais econômica e mais sustentável.

5 CONCLUSÃO

Até o momento, este é o primeiro estudo de avaliação de diferentes técnicas de secagem e de extração de compostos bioativos de bagaço de tomate, um resíduo da indústria de tomate que é usualmente descartado em aterros sanitários e gera grandes impactos ambientais para o seu entorno. O bagaço de tomate é rico em nutrientes, com destaque para o licopeno, que está mais biodisponível e acessível para processos extrativos do que no fruto *in natura*, entretanto, devido ao seu elevado teor de umidade, sua secagem é fundamental. Neste estudo, os extratos que foram previamente secos por leito de jorro apresentaram maiores teores de licopeno e em menor tempo de processo que os extratos obtidos após prévia secagem em estufa com circulação de ar, demonstrando a viabilidade do processo de secagem do bagaço de tomate em leito de jorro para a recuperação de compostos bioativos com melhor qualidade.

Este é o primeiro estudo sobre a extração de licopeno do bagaço de tomate por técnicas de micro-ondas e líquido pressurizado. As técnicas de MAE e PLE apresentaram extratos de maior qualidade que a técnica convencional de extração (Soxhlet), em termos de rendimento, DPPH, FRAP, descoloração do sistema β -Caroteno e licopeno. Nesse sentido, para a técnica de MAE, a proporção de solvente e a temperatura foram os fatores mais significativos para o planejamento experimental, obtendo uma condição ótima de 90 °C; 90:10 de Etanol:Acetato; 3 min de extração. Para a técnica PLE, a vazão e a temperatura foram os fatores mais significativos obtendo uma condição ótima de 90 °C; 50:50 de Etanol:Acetato; 2 mL·min⁻¹.

O extrato obtido por PLE apresentou os maiores teores de atividade antioxidante, já o extrato obtido por MAE apresentou o maior teor de licopeno 59,66 ($\mu\text{g licopeno}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato) e a maior taxa de recuperação de licopeno 66,93%, semelhante ao de outras técnicas de extração, disponíveis na literatura, e se destacando por utilizar um tempo extremamente curto (3 min). Atualmente, há disponível no mercado um produto semelhante a um preço de R\$ 782,00, caso fosse empregada uma técnica de purificação, seriam necessários 16,76 g de extrato para produzir 1 mg de licopeno puro, demonstrando a potencial margem de lucro do processo. Dessa forma, o presente estudo contribuiu para demonstrar alternativas viáveis de secagem e de extração de compostos do bagaço de tomate para a obtenção de licopeno de forma segura, mais econômica e mais sustentável.

6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Determinar o perfil cromatográfico dos extratos, por CLAE, para identificação e quantificação de todos os compostos com atividade antioxidante presentes nos extratos.
- Analisar as amostras secas e os resíduos das extrações por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) para um melhor entendimento do comportamento de extração.
- Determinar a capacidade antioxidante dos extratos pelo método de ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*), visando a obtenção de dados ainda mais relevantes.
- Avaliar a influência de uma alimentação enriquecida com o extrato obtido por MAE, previamente seco em leito de jorro, em camundongos, visando uma redução dos níveis de colesterol no sangue, como descrito por Shao et al. (2013).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-SAMRA, A.; MORRIS, J. S.; KOIRTYOHANN, S. R.; Wet Ashing of Some Biological Samples in a Microwave Oven. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 8, 1975.

AGARWAL, S.; RAO, A. V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal**, v. 163, n. 6, p. 739-744, 2000.

AHMAD, J.; LANGRISH, T.A.G. Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: the importance of the Maillard reaction. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 1, p. 162-174, 2012.

AKOH, C.; MIN, D. Food lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. 3 Ed. Boca Raton, FL.: **CRC Press/Taylor & Francis Group**, 2008.

ALAMED, J.; CHAIYASIT, W.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 2969–2976, 2009.

AL-HARAHSHEH, M.; AL-MUHTASEB, A. H.; MAGEE, T. R. A. Microwave drying kinetics of tomato pomace: Effect of osmotic dehydration. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 48, n. 1, p. 524–531, 2009.

ALLISON, B. J.; SIMMONS, C. W. Valorization of tomato pomace by sequential lycopene extraction and anaerobic digestion. **Biomass and Bioenergy**, v. 105, p. 331–341, 2017.

AL-MUHTASEB, A. H.; AL-HARAHSHEH, M.; HARARAH, M.; MAGEE, T. R. A. Drying characteristics and quality change of unutilized-protein rich-tomato pomace with and without osmotic pre-treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 1, p. 171–177, 2010.

ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. 2 Ed. Lavras: UFLA, p.455, 2012.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quimica Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202–2210, 2010.

AMAROWICZ, R. Antioxidant activity of Maillard reaction products. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, n. 2, p. 109-111, 2009.

AMBRÓSIO, C. L.; CAMPOS, F. D.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006.

AMIRI-RIGI, A.; ABBASI, S. Extraction of lycopene using a lecithin-based olive oil microemulsion. **Food Chemistry**, v. 272, p. 568-573, 2019.

AMIRI-RIGI, A.; ABBASI, S.; SCANLON, M. G. Enhanced lycopene extraction from tomato industrial waste using microemulsion technique: Optimization of enzymatic and ultrasound pre-treatments. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 35, p. 160–167, 2016.

AMORIM-CARRILHO, K.T.; CEPEDA, A.; GENTE, C.; REGAL, P. Review of methods for analysis of carotenoids. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 56, p. 49-73, 2014.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B. do CEPPA**, v. 24, n. 2, p. 319–336, 2006.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th Ed. Gaitheersburg, 1997.

ARAB, L.; STECK, S. Lycopene and cardiovascular disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1691S–1695S, 2000.

ARATHI, B. P.; SOWMYA, R. R.; VIJAY, K.; BASKARAN, V.; LAKSHMINARAYANA, R. Metabolomics of carotenoids: the challenges and prospects – a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 1, p. 105-117, 2015.

ASAE, Method of determining and expressing fineness of feed materials by sieving.

ANSI/ASAE S319.3. In: **Agricultural Engineers Yearbook of Standard**. St. Joseph: ASAE, 51 Ed. p. 578-81, 2004.

BADAOU, O.; HANINI, S.; DJEBLI, A.; BRAHIM, H.; BENHAMOU, A. Experimental and modeling study of tomato pomace waste drying in a new solar greenhouse: Evaluation of new drying models. **Renewable Energy**, v. 133, p. 144–155, 2018.

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.

BARNES, J. S.; NGUYEN, H. P.; SHEN, S.; SCHUG, K. A. General method for extraction of blueberry anthocyanins and identification using high performance liquid chromatography–electrospray ionization-ion trap-time of flight-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 23, p. 4728–4735, 2009.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4 Ed. Porto Alegre: Bookman, p. 414, 2010.

BASLAR, M., KARASU, S., KILIÇLI, M., US, A.A. SAGDIÇ, O. Degradation kinetics of bioactive compounds and antioxidant activity of pomegranate arils during the drying process. **International Journal of Food Engineering**, v. 10, n. 4, p. 839–848, 2014.

BAYSAL, T.; ERSUS, S.; STARMANS, D. A. J. Supercritical CO₂ Extraction of β -Carotene and Lycopene from Tomato Paste Waste. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 11, p. 5507-5511, 2000.

BELWAL, T.; EZZAT, S. M.; RASTRELLI, L.; BHATT, I. D.; DAGLIA, M.; BALDI, A.; DEVKOTA, H. P.; ORHAN, I. E.; PATRA, J. K.; DAS, G.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; GOMEZ-GOMEZ, L.; NABAVI, S. F.; NABAVI, S. M.; ATANASOV, A. G. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 82–102, 2018.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

BEZERRA, C. V.; AMANTE, E. R.; OLIVEIRA, D. C.; RODRIGUES, A. M. C.; SILVA, L. H. M. Green banana (*Musa cavendishii*) flour obtained in spouted bed – Effect of drying on physico-chemical, functional and morphological characteristics of the starch. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 241–249, 2012.

BIANCHI, M. de L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123– 130, 1999.

BOROSKI, M.; VISENTAINER, J.V.; COTTICA, S.M.; MORAIS, D.R. **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. Editora Appris. Curitiba-PR. 1 Ed. 2015.

BOTTERWECK, A.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R. A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P. A. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: Results from analyses in the Netherlands cohort study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38(7), p. 599–605, 2000.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some new three level designs for study of quantitative variables. **Technometrics** 2, p. 455, 1960.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 272, de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o “Regulamento Técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis”, **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2005.

BROD, F. P. R. **Avaliação de um secador vibro-fluidizado**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola), 361f. Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, 2003.

BRUDZYNSKI, K.; MIOTTO, D. The relationship between the content of Maillard reaction-like products and bioactivity of Canadian honeys. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 869-874, 2011.

CAMEL, V. Recent extraction techniques for solid matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. **Analyst**, v. 126, n. 7, p. 1182– 1193, 2001.

CAÑADAS, R.; GONZALEZ-MIQUEL, M.; GONZÁLEZ, E. J.; DÍAZ, I.; RODRIGUEZ, M. Overview of neoteric solvents as extractants in food industry: A focus on phenolic compounds separation from liquid streams. **Food Research International**, v. 136, p. 109558, 2020.

CHANG, C. H.; LIN, H. Y.; CHANG, C. Y.; LIU, Y. C. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 3, p. 478–485, 2006.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: concept and principles. **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615-8627, 2012.

CHITRAKAR, B.; ZHANG, M.; BHANDARI, B. Novel Intelligent Detection of Safer Water Activity by LF-NMR Spectra for Selected Fruits and Vegetables during Drying. **Food Bioprocess Technology**, v. 12, n. 7, p. 1093–1101, 2019.

CLEMENTE, F. M. V. T.; BOITEUX, L. S. Produção de tomate para processamento industrial. **CEP**, Brasília: Embrapa, v. 70, p. 970, 2012.

CONCHA-MEYER, A.; PALOMO, I.; PLAZA, A.; TARONE, A. G.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; FUENTES, E. Platelet Anti-Aggregant Activity and Bioactive Compounds of Ultrasound-Assisted Extracts from Whole and Seedless Tomato Pomace. **Foods**, v. 9, n. 11, p. 1564, 2020.

CUEVAS-RAMOS, D.; ALMEDA-VALDÉS, P.; CHÁVEZ-MANZANERA, E.; MEZA-ARANA, C. E.; BRITO-CÓRDOVA, G.; MEHTA, R.; PÉREZ-MÉNDEZ, O.; GÓMEZ-

PÉREZ, F. J. Effect of tomato consumption on high-density lipoprotein cholesterol level: a randomized, single-blinded, controlled clinical trial. **Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy**, v. 6, n. 1, p. 263–273, 2013.

DANLAMI, J. M.; AGUS, A.; MUHAMMAD, A. A. Z.; HANIZAM, S. A. Comparative study of various oil extraction techniques from plants. **Reviews in Chemical Engineering**, v. 30, n. 6, p. 605–26, 2014.

DÉGASPARI, C.H.; WASZCYNKYJ, N. Propriedade antioxidante de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEGHAN-SHOAR, Z.; HARDACRE, A. K.; MEERDINK, G.; BRENNAN, C. S. Lycopene extraction from extruded products containing tomato skin. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 365-371, 2011.

DEL VALLE, M.; CAMARA, M.; TORIJA, M. E. Chemical characterization of tomato pomace. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 1232– 1236, 2006.

DEMIRAY, E.; TULEK, Y.; YILMAZ, Y. Degradation Kinetics of Lycopene, β -Carotene and Ascorbic Acid in Tomatoes during Hot Air Drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 172-176, 2013.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214–219, 1980.

DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K. K.; LIU, R. H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3010–3014, 2002.

DI MASCIO, P.; KAISER, S. P.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry Biophysics**, v. 274, n. 2, p. 532-538, 1989.

- DIAS, M. G.; CAMÕES, M. F. G. F. C.; OLIVEIRA, L. Uncertainty estimation and in-house method validation of HPLC analysis of carotenoids for food composition data production. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 815-824, 2008.
- DOYMAZ, I. Air-drying characteristics of tomatoes. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 4, p. 1291–1297, 2007.
- DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.
- DUDONN, S.; VITRAC, X.; COUTIÈRE, P.; WOILLEZ, M.; MÉRILLON, J. M. Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p.1768-1774, 2009.
- EGYDIO, J. A.; MORAES, A. M.; ROSA, P. T. V. Supercritical fluid extraction of lycopene from tomato juice and characterization of its antioxidation activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, n. 2, p. 159-164, 2010.
- EH, A. L. S.; TEOH, S. G. Novel modified ultrasonication technique for the extraction of lycopene from tomatoes. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 19, n. 1, p. 151–159, 2012.
- EPSTEIN, N.; GRACE, J. R. Spouted and Spout-Fluid Beds: Fundamentals and Applications. **New York: Cambridge University Press**, p. 340, 2011.
- FAGUNDES, C.; MORAES, K.; PÉREZ-GAGO, M. B.; PALOU, L.; MARASCHIN, M.; MONTEIRO, A. R. Effect of active modified atmosphere and cold storage on the postharvest quality of cherry tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p. 73–81, 2015.
- FANTIN, G.; FOGAGNOLO, M.; MEDICI, A.; PERRONE, D. Isolation of lycopene from crude tomato extract via selective inclusion in deoxycholic acid. **Tetrahedron Letters**, v. 48, p. 9148–9150, 2007.

FDA, U.S. FOOD & DRUGS ADMINISTRATION. Direct food substances generally recognized as safe. In: Code of Federal Regulations Title 21, Subchapter B—Food For Human Consumption: 472-485. Office of the Federal Register National Archives and Records Administration (NARA). **US Government Publishing Office (GPO)**, 2020, Washington, DC. Disponível em:

<<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.60&SearchTerm=ethyl%20acetate>>. Acesso em: 05 out. 2020.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e prática** (2th ed.), Artmed, Porto Alegre, p. 944, 2018.

FERNANDES, O. A.; CARDOSO, A. M.; MARTINELLI, S. **Manejo integrado de pragas do tomate**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2010. 39p.

FERNANDEZ-GARCIA, E; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; JARÉN-GALÁN, M.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-GÁLVEZ, A.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 438–450, 2012.

FERRARI, A. A. **Caracterização química de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) empregando análise por ativação neutrônica instrumental**. 150 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; SANTOS, W. N. L. Box- Behnken design: na alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, n. 2, p.179–186, 2007.

FOUST, A. S.; WENZEL, L. A.; CLUMP, C. W.; MAUS, L.; ANDERSEN, L. B. Princípios das Operações Unitárias, 2 Ed. **LTC – Livros Técnicos e Científicos**. Editora AS, Rio de Janeiro, 1982.

- FRANCESCHI, S.; BIDOLI, E.; LA VECCHIA, C.; TALAMINI, R.; D'AVANZO, B.; NEGRI, E. Tomatoes and risk of digestive-tract cancers. **International Journal of Cancer**, v. 59, n. 2, p. 181–184, 1994.
- FRUSCIANTE, L.; CARLI, P.; ERCOLANO, M.R.; PERNICE, R.; DI MATTEO, A.; FOGLIANO, V.; PELLEGRINI, N. Antioxidant nutritional quality of tomato. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, p. 609-617, 2007.
- GUPTA, P.; SREELAKSHMI, Y.; SHARMA, R. A rapid and sensitive method for determination of carotenoids in plant tissues by high performance liquid chromatography. **Plant Methods**, v. 11, n. 1, p. 5, 2015.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. **Oxford University Press Inc**, 4 Ed, New York, 2007.
- HATAMI, T.; MEIRELES, M. A. A.; CIFTCI, O. N. Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene from tomato processing by-products: Mathematical modeling and optimization. **Journal of food engineering**, v. 241, p. 18-25, 2019.
- HENG, M. Y.; TAN, S. N.; YONG, J. W. H.; ONG, E. S. Emerging green technologies for the chemical standardization of botanicals and herbal preparations. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 1-10, 2013.
- HOCMAN, G. Biochemistry of Aging and Cancer. **International Journal of Biochemistry**, v. 13, n. 6, p. 659–672, 1981.
- JANGAM, S. V.; MUJUMDAR, A. S. Basic concepts and Definitions. In: Jangam, Law e Mujumdar (Ed.). *Drying of food vegetables and fruit*. **Singapore: TPR Group**, v. 1, p. 3-26, 2010.
- JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. **Food Chemistry**, v. 73, p. 285-290, 2001.

JORGE, A.; ALMEIDA, D. M.; CANTERI, M. H. G.; SEQUINEL, T.; KUBASKI, E. T.; TEBCHERANI, S. M. Evaluation of the chemical composition and colour in long-life tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill) dehydrated by combined drying methods.

International Journal of Food Science & Technology, v. 49, n. 9, p. 2001–2007, 2014.

KANG, H. J.; CHAWLA, S. P.; JO, C.; KWON, J. H.; BYUN, M. W. Studies on the development of functional powder from citrus peel. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 4, p. 614–620, 2006.

KAPPE, C. O.; DALLINGER, D.; MURPHREE, S. S. Practical Micro-wave Synthesis for Organic Chemists: Strategies, Instruments, and Protocols. **John Wiley & Sons**, Weinheim, 2009.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. 1, p. 41–60, 2009.

KARASU, S.; KILICLI, M.; BASLAR, M.; ARICI, M.; SAGDIC, O.; KARAAGCLI, M. Dehydration kinetics and changes of bioactive compounds of tulip and poppy petals as a natural colorant under vacuum and oven conditions. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, p. 2096–2106, 2015.

KAUR, D.; WANI, A. A.; OBEROI, D. P. S.; SOGI, D. S. Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology, **Food Chemistry**, v. 108, n. 2, p. 711-718, 2008. ^[1]_[SEP]

KAUR, D.; WANI, A. A.; SOGI, D. S.; SHIVHARE, U. S. Sorption Isotherms and Drying Characteristics of Tomato Peel Isolated from Tomato Pomace, **Drying Technology**, v. 24, n. 11, p. 1515-1520, 2006.

KEHILI, M.; KAMMLOTT, M.; CHOURA, S.; ZAMMEL, A.; ZETZL, C.; SMIRNOVA, I.; ALLOUCHED, N.; SAYADI, S. Supercritical CO₂ extraction and antioxidant activity of lycopene and β -carotene-enriched oleoresin from tomato (*Lycopersicum esculentum* L.) peels by-product of a Tunisian industry. **Food and bioproducts processing**, v. 102, p. 340–349, 2017.

- KO, M. J.; CHEIGH, C. I.; CHO, S. W.; CHUNG, M. S. Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin. **Journal of Food Engineering**, v. 102, p. 327–333, 2011.
- KOH, E.; CHAROENPRASERT, S.; MITCHELL, A. E. Effects of industrial tomato paste processing on ascorbic acid, flavonoids and carotenoids and their stability over one-year storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 1, p. 23-28, 2012.
- LARIO, Y.; SENDRA, E.; GARCÍA-PÉREZ, J.; FUENTES, C.; SAYAS –BARBERÁ, E.; FÉRNANDEZ-LÓPEZ, J. Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 5, p. 113-117, 2004.
- LAVELLI, V.; KERR, W.; SRI HARSHA, P. S. C. Phytochemical Stability in Dried Tomato Pulp and Peel As Affected by Moisture Properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 3, p. 700–707, 2013.
- LAVELLI, V.; TORRESANI, M. C. Modelling the stability of lycopene-rich by-products of tomato processing. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 529–535, 2011.
- LENUCCI, M. S.; DURANTE, M.; ANNA, M.; DALESSANDRO, G.; PIRO, G. Possible Use of the Carbohydrates Present in Tomato Pomace and in Byproducts of the Supercritical Carbon Dioxide Lycopene Extraction Process as Biomass for Bioethanol Production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 15, p. 3683–3692, 2013.
- LIANFU, Z.; ZELONG, L. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 731–737, 2008.
- LIVNY, O.; KAPLAN, I.; REIFEN, R.; POLAK-CHARCON, S.; MADAR, Z.; SCHWARTZ, B. Lycopene inhibits proliferation and enhances gap-junction communication of KB-1 human oral tumor cells. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 12, p. 3754–3759, 2002.
- LÓPEZ-NIETO, M. J.; COSTA, J.; PEIRO, E.; MÉNDEZ, E.; RODRÍGUEZ-SÁIZ, M.; DE LA FUENTE, J. L.; CABRI, W.; BARREDO, J. L. Biotechnological lycopene production by

mated fermentation of *Blakeslea trispora*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 2, p. 153–159, 2004.

LUENGO, E.; CONDÓN-ABANTO, S.; CONDÓN, S.; ÁLVAREZ, I.; RASO, J. Improving the extraction of carotenoids from tomato waste by application of ultrasound under pressure. **Separation and Purification Technology**, v. 136, p. 130–136, 2014.

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

MACHMUDAH, S.; ZAKARIA, S.; WINARDI, M.; SASAKI, M.; GOTO, N.; KUSUMOTO, N.; HAYAKAWA K. Lycopene extraction from tomato peel by-product containing tomato seed using supercritical carbon dioxide. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 2, p. 290–296, 2012.

MATTHÄUS, B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3444–3452, 2002.

MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S.; HERRERO, M.; IBAÑEZ, E. Intensified aqueous-based processes to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 64-71, 2017.

MENDES, A. M. **Estudo da deposição de filmes finos de BaTi_(1-x)Zr_(x)O₃ por meio de planejamento Box-Behnken**. 67 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, NATAL, RN, 2015.

MEZZOMO, N.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Economical viability of SFE from peach almond, spearmint and marigold. **Journal of food engineering**, v. 103, n. 4, p. 473-479, 2011.

MINTZ-ORON, S.; MANDEL, T.; ROGACHEV, I.; FELDBERG, L.; LOTAN, O.; YATIV, M.; WANG, Z.; JETTER, R.; VENGER, I.; ADATO, A.; AHARONI, A. Gene expression and metabolism in tomato fruit surface tissues. *Plant Physiology*, v. 147, n. 2, p. 823–851, 2008.

MONTEVALI, A.; MINAEI, S.; KHOSHTAGAZA, M.H. Evaluation of energy consumption in different drying methods. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 1192–1199, 2011.

MOON, J.; SHIBAMOTO, T. Antioxidant assays for plant and food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1655–1666, 2009.

MORITZ, B.; TRAMONTE, V. L. C. Biodisponibilidade do licopeno. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 02, p. 265-273, 2006.

MUJUMDAR, A. S. Handbook of Industrial Drying. 3 Ed. **London: CRC Press/Taylor & Francis Group**, p. 1312, 2006.

MUNHOZ, K. **Estudo da cinética de degradação da cor, ácido ascórbico e consistência ao longo da cadeia de processamento industrial de polpa concentrada de tomate**. 99 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2016.

MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, p. 8-18, 2011.

NASCIMENTO, L. D. **Caracterização, análise fluidodinâmica e secagem de sementes de painço em leito de jorro**. 141 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Pará, Belém, PA, 2014.

NAVIGLIO, D.; PIZZOLONGO, F.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, B.; ARAGÒN, A.; SANTINI, A. Extraction of pure lycopene from industrial tomato by-products in water using a new high-pressure process. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 2414–2420, 2008.

NEPA/UNICAMP. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA - UNICAMP. 4 Ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, p. 161, 2011.

NIETO, A.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R. M. Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal care products from sewage sludge. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 7, p. 752–764, 2010.

NOBRE, B. P.; PALAVRA, A. F.; PESSOA, F. L. P.; MENDES, R. L. Supercritical CO₂ extraction of trans-lycopene from Portuguese tomato industrial waste. **Food Chemistry**, v. 116, p. 680–685, 2009.

NOLLET, L.; TOLDRÁ, F. Food Analysis by HPLC. 3 Ed. **Boca Raton: CRC Press**, 2012.

NOUR, V.; IONICA, M. E.; TRANDAFIR, I. Bread enriched in lycopene and other bioactive compounds by addition of dry tomato waste. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 12, p. 8260-8267, 2015.

OMONI, A. O.; ALUKO, R. E. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, n. 1, p. 344–350, 2005.

PALLAI-VARSÁNYI, E.; TÓTH, J.; GYENIS, J. Drying of suspensions and solutions on inert particle surface in mechanically spouted bed dryer. **China Particuology**, v. 5, n. 5, p. 337–344, 2007.

PANDYA, D.; AKBARI, S.; BHATT, H.; JOSHI, D. C. Standardization of solvent extraction process for lycopene extraction from tomato pomace. **Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering**, 1 Ed. v. 2, p. 1-5, 2017.

PASSOS, M. L.; MUJUMDAR, A. S. Effect of cohesive forces on fluidized and spouted beds of wet particles. **Powder Technology**, v. 110, p. 222-238, 2000.

PASSOS, M. L.; MASSARANI, G.; FREIRE, J. T.; MUJUNDAR, A.S. Drying of pastes in spouted beds of inert particles: design criteria and modeling. **Drying Technology**, v. 15, n. 2, p. 605-624. 1997.

PINELA, J.; PRIETO, M. A.; CARVALHO, A. M.; BARREIRO, M. F.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. Microwave-assisted extraction of phenolic acids and

flavonoids and production of antioxidant ingredients from tomato: A nutraceutical-oriented optimization study. **Separation and Purification Technology**, v. 164, p. 114-124, 2016.

PLAZA, M.; AMIGO, M.; DEL CASTILLO, M. D.; IBÁÑEZ, E.; HERRERO, M. Facts about the formation of new antioxidants in natural samples after subcritical water extraction. **Food Research International**, v. 43, n. 10, p. 2341–2348, 2010a.

PLAZA, M.; AMIGO, M.; IBÁÑEZ, E.; DEL CASTILLO, M. D.; HERRERO, M. Neoformation of antioxidants in glycation model systems treated under subcritical water extraction conditions. **Food Research International**, v. 43, n. 4, p. 1123–1129, 2010b.

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

POOJARY, M. M., & PASSAMONTI, P. Extraction of lycopene from tomato processing waste: Kinetics and modelling. **Food Chemistry**, v. 173, p. 943–950, 2015.

QIAN, L.; PING, Y.; YUNBAI, L. Response surface modeling and optimization of a new impact-toughened mould material used in the shaping of sanitary ware. **Materials & Design**, v. 50, p. 191-197, 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RANIC, M.; NIKOLIC, M.; PAVLOVIC, M.; BUNTIC, A.; SILER-MARINKOVIC, S.; DIMITRIJEVIC- BRANKOVIC, S. Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent espresso coffee grounds by response surface methodology. **Journal of Cleaner Production**, v. 80, p. 69-79, 2014.

RATTI, C. Hot air and freeze-drying-value foods: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 49, n. 4, p. 311-319, 2001.

ROCHA, S. C. S.; DONIDA, M. W.; MARQUES, A. M. M. Liquid-particle surface properties on spouted bed coating and drying performance. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 87, p. 695-703, 2009.

- RODRIGUES, L. G. G.; MAZZUTTI, S.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; FERREIRA, S. R. S. Recovery of bioactive phenolic compounds from papaya seeds agroindustrial residue using subcritical water extraction. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101367, 2019.
- ROZZI, N. L.; SINGH, R. K.; VIERLING, R. A.; WATKINS, A. Supercritical Fluid Extraction of Lycopene from Tomato Processing Byproducts. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2638-2643, 2002.
- SABIO, E.; LOZANO, M.; MONTERO DE ESPINOSA, V.; MENDES, R. L.; PEREIRA, A. P.; PALAVRA, A. F.; COELHO, J. Lycopene and β -Carotene Extraction from Tomato Processing Waste Using Supercritical CO₂. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 42, n. 25, p. 6641-6646, 2003.
- SARKAR, A.; KAUL, P. Evaluation of Tomato Processing By-Products: A Comparative Study in a Pilot Scale Setup. **Journal of Food Process Engineering**, v. 37, n. 3, p. 299-307, 2014.
- SCAGLIA, B.; D'INCECCO, P.; SQUILLACE, P.; DELL'ORTO, M.; DE NISI, P.; PELLEGRINO, L.; BOTTO, A.; CAVICCHI, C.; ADANI, F. Development of a tomato pomace biorefinery based on a CO₂-supercritical extraction process for the production of a high value lycopene product, bioenergy and digestate. **Journal of Cleaner Production**, v. 243, p. 118650, 2019.
- SCHULER P. Natural antioxidants exploited commercially. In: Hudson, B. J. F., editor. **Food antioxidants**, New York: Elsevier Applied Science. p 99–170, 1990.
- SHAHIDI, F. Handbook of Antioxidants for Food Preservation. In: Woodhead Publishing Series in Food Science. **Technology and Nutrition**, n. 276, 2015.
- SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Antioxidants: Regulatory status. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's industrial oil and fat products*. **John Wiley and Sons Inc.** p. 491–521, 2005.

SHAO, D.; BARTLEY, G. E.; YOKOYAMA, W.; PAN, Z.; ZHANG, H.; ZHANG, A. Plasma and hepatic cholesterol-lowering effects of tomato pomace, tomato seed oil and defatted tomato seed in hamsters fed with high-fat diets. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1, p. 589–596, 2013.

SIGMA-ALDRICH. **Lycopene \geq 98% (HPLC), from tomato**. St. Louis, EUA. Disponível em:

<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/smb00706?lang=pt®ion=BR&cm_sp=Insite-_-caSrpResults_srpRecs_srpModel_lycopen-_-srpRecs3-3>. Acesso em: 25 jan. 2021.

SILVA, Y. P. A.; FERREIRA, T. A. P. C.; JIAO, G.; BROOKS, M. S. Sustainable approach for lycopene extraction from tomato processing by-product using hydrophobic eutectic solvents. **Journal of food science and technology**, v. 56, n. 3, p. 1649–1654, 2019.

SIMIÃO, A.M. Aditivos para alimentos sob o aspecto toxicológico. **Nobel**, São Paulo, p. 274, 1975.

SINGH, P. R.; HELDMAN, D. R. **Introduction to Food Engineering**, 5th Ed. Academic Press, p. 892, 2014.

SIRIAMORNPNUN, S.; KAISOON, O.; MEESO, N. Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene, β -carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 4, p. 757-766, 2012.

SPITZNER NETO, P. I.; CUNHA, F. O.; FREIRE, J. T. Effect of the presence of paste in a conical spouted bed dryer with continuous feeding. **Drying Technology**, v. 20, p. 789–811, 2002.

SUCUPIRA, N. R.; DA SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; DA COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, p. 263–269, 2012.

TAKEMOTO, E.; FILHO, J. T.; GODOY, H. T. Validação de metodologia para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1189–1194, 2009.

TAN, S.; KE, Z.; CHAI, D.; MIAO, Y.; LUO, K.; LI, W. Lycopene, polyphenols and antioxidant activities of three characteristic tomato cultivars subjected to two drying methods. **Food Chemistry**, v. 338, p. 128062, 2020.

TOPAL, U.; SASAKI, M.; GOTO, M.; HAYAKAWA, K. Extraction of lycopene from tomato skin with supercritical carbon dioxide: effect of operating conditions and solubility analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5604–5610, 2006.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal of Chromatography B**, v. 812, n. 1-2, p. 85–99, 2004.

VÁGI, E.; SIMÁNDI, B.; VÁSÁRHELYINÉ, K. P.; DAOOD, H.; KÉRY, Á.; DOLESCHALL, F.; NAGY, B. Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids, tocopherols and sitosterols from industrial tomato by-products. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 40, n. 2, p. 218–226, 2007.

VALLECILLA-YEPEZ, L.; CIFTCI, N. O. Increasing cis-lycopene content of the oleoresin from tomato processing byproducts using supercritical carbon dioxide. **LWT - Food Science and Technology**, v. 95, p. 354-360, 2018.

VEGGI, P. C.; MARTINEZ, J.; MEIRELES, M. A. A. Fundamentals of microwave extraction. In: **Microwave-assisted extraction for bioactive compounds**. Springer, Boston, MA, p. 15-52, 2012.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials.

TrAC - Trends in Analytical Chemistry, v. 97, p. 159–178, 2017.

WHELAN, T. The Bekum blow moulding Handbook. **Bekum Maschinenfabriken GmbH**, 1 Ed. 1989.

WIDYAWATI, P. S.; DWI, T.; BUDIANTA, W.; KUSUMA, F. A.; WIJAYA, E. L.

Difference of Solvent Polarity To Phytochemical Content and Antioxidant Activity of *Pluchea indicia* Less Leaves Extracts. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 6, n. 4, p. 850-855, 2014.

WIJNGAARD, H.; HOSSAIN, M. B.; RAI, D. K.; BRUNTON, N. Techniques to extract bio-active compounds from food by-products of plant origin. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 505–513, 2012.

WPTC - World Processing Tomato Council. **World production estimate as of 11 March 2020**. Avignon, France. Disponível em:

<<https://www.wptc.to/pdf/releases/WPTC%20crop%20update%20as%20of%2011%20March%202020.pdf>>. Acesso em: 17 dez. 2020.

WU, L.; YICK, K. L.; NG, S. P.; YIP, J. Application of the Box–Behnken design to the optimization of process parameters in foam cup molding. **Expert Systems with Applications**, v. 39, n. 9, p. 8059-8065, 2012.

XU, D. P.; LI, Y.; MENG, X.; ZHOU, T.; ZHOU, Y.; ZHENG, J.; ZHANG, J. J.; LI, H. B. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 18, n. 1, p. 96, 2017.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 8, p. 4083-4089, 2001.

ZHANG, H. F.; YANG, X. H.; WANG, Y. Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: Current status and future directions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 672, 2011.

ZUKNIK, M. H.; NORULAINI, N. N.; OMAR, A. M. Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 112, n. 4, p. 253–262, 2012.

ZUORRO, A.; FIDALEO, M.; LAVECCHIA, R. Enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 49, n. 6–7, p. 567–573, 2011.

ZUORRO, A.; LAVECCHIA, R.; MEDICI, F.; PIGA, L. Enzyme-Assisted Production of Tomato Seed Oil Enriched with Lycopene from Tomato Pomace. **Food and bioprocess technology**, v. 6, n. 12, p. 3499-3509, 2013.