



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Bruno Magalhães Silva

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO E DO RENDIMENTO GLOBAL DOS EXTRATOS
VEGETAIS DO ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) ORIUNDOS DE
DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

Florianópolis

2022

Bruno Magalhães Silva

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC para a obtenção de Título de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Machado

FLORIANÓPOLIS

2022

Ficha de identificação da obra

Magalhães Silva, Bruno

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO E DO RENDIMENTO GLOBAL DOS EXTRATOS VEGETAIS DO ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Mill.) ORIUNDOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO / Bruno Magalhães Silva ; orientador, Ariovaldo Bolzan, coorientador, Ricardo Machado, 2022.

130 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. *Pereskia aculeata*. 3. Extração com CO₂ supercrítico. 4. Ultrassom. 5. Atividade antioxidante. I. Bolzan, Ariovaldo. II. Machado, Ricardo. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Bruno Magalhães Silva

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO E DO RENDIMENTO GLOBAL DOS EXTRATOS
VEGETAIS DO ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata Mill.*) ORIUNDOS DE
DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

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

Profa. Dra. Cintia Marangoni

UFSC/PósENQ

Dra. Daniela Gava Citadin

About Solution/Paraná

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan, Dr.

UFSC/PósENQ

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de mestre em Engenharia química pelo
Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de
Santa Catarina

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan,

Orientador

Florianópolis

2022

Este trabalho é dedicado à minha avó Almerinda (*in memoriam*), que tanto me ensinou sobre a doçura da existência.

AGRADECIMENTOS

À UFSC, conjuntamente com o Programa de Pós-graduação em Engenharia Química - POSENQ, pelo suporte estrutural, material e intelectual disponibilizado.

Ao LCP, por toda estrutura, recursos, locação e pelas longas horas, dias e semanas que nele passei.

Ao orientador Dr. Ariovaldo Bolzan, pela confiança, instruções, compartilhamento de conhecimento, encorajamento e por atravessarmos este período pandêmico juntos neste trabalho. Ao co-orientador Dr. Ricardo Machado pela prontidão e orientação.

Às colegas do grupo da supercrítica Thuany e Thaíris, sem vocês este trabalho não teria acontecido da forma que aconteceu. MUITÍSSIMO obrigado. Aos demais colegas do LCP, Thomas, Arthur, Luiz Paulo, Heloísa, Joceane, Thiago, Jeovandro, Felipe e Nathália, amiga de laboratório e da vida inteira pela frente.

A minha amiga Karen, por me suportar, com todos os significados que esta palavra pode oferecer, pelo afeto, companheirismo e paciência.

Aos meus amigos Heuvath, Jaqueline, Amanda, Fabrício, Bruna, Carlos e Felipe, pelos bons e necessários momentos, necessários para prosseguir.

À egbé da Escola Livre Ubuntu de Florianópolis, pelo acolhimento, afeto, estudo e amizade. Agradeço imensamente ao Tio Jayro, Ya Makota Mametu Eli, Ya Bárbara, Ya Valdirene, Luck Yemonja Banke, Lucas Keinde, Aline, Jaqueline, Rafael, Khassio, Patrícia, Gabriela, Melinda, Ágata, Ijilólá, Ajamu, Estela, Gisele, Viviane, Jeff e Pami. Somos muitos. Adupé pela existência de cada um. Muito obrigado pelo apoio afetivo e existencial, sem vocês nada do que foi feito seria possível.

Ao meu pai José e minha mãe Heleny, pelo amor incondicional, pela vida e por todo caminho percorrido para que eu possa chegar onde estou. Tenho muita honra, orgulho de ser filho de vocês, gratidão por tudo.

A minha irmã Camila, pela parceria e amor. A minha sobrinha Liz, pelo afeto e por alegrar meus dias, dando forças para prosseguir.

A minha avó Almerinda (*in memorian*) a quem dedico este trabalho e a minha avó Terezinha, pelo exemplo de resistência e força.

Por fim, a Deus, o grande criador, e ao meu pai Ossain, meu pai Oxalá, e minha mãe Yemanjá, sem o axé de vocês este trabalho jamais teria sido realizado, e ao meu Ori, pela força e paciência que nem eu mesmo sabia que tinha.

“Me deu saudade de algum buritizal, na ida duma vereda em capim tem-que verde, termo da chapada. Saudades, dessas que respondem ao vento; saudade do Gerais. O senhor vê: o remão do vento nas palmas dos buritis todos, quando é ameaça de tempestade. Alguém esquece isso? O vento é verde. Aí, no intervalo, o senhor pega o silêncio e põe no colo. Eu sou donde nasci. Sou de outros lugares.”

Guimarães Rosa.

RESUMO

Com o passar do tempo, as técnicas de manipulação e obtenção dos princípios ativos de origem vegetal vêm se diversificando e se tornando mais seletivas, eficientes e ambientalmente seguras. Nos últimos anos, a extração com CO₂ em estado supercrítico (ESF) se destaca por sua eficiência, seletividade e mínimo impacto ambiental. No Brasil a ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) é utilizada como alimento devido ao seu alto valor nutricional e pela sua capacidade cicatrizante e anti-inflamatória. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o rendimento e a composição dos extratos de ora-pro-nobis obtidos com as técnicas clássicas de extração: Soxhlet e hidrodestilação; e técnicas modernas: ultrassom e fluido supercrítico. Além disso, também se determinou a atividade antioxidante dos extratos obtidos por meio da técnica de redução do radical DPPH. O etanol e o hexano foram utilizados como solvente nas técnicas de soxhlet e ultrassom. As condições de operação do processo supercrítico compreenderam faixas de pressão de 80 a 200 bar, temperatura de 36 a 66 °C e 0 a 20% de cossolvente (Cs) – etanol. A composição dos extratos foi avaliada utilizando-se o GC-MS. Foi observado maiores rendimentos dos processos quando o etanol foi utilizado como solvente: 9,71% para soxhlet, 3,01% para ultrassom e 3,83% pra ESF nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% Cs. O maior rendimento observado para ESF a sem adição de cossolvente foi de 0,830% nas condições de 170 bar e 60°C, mostrando a influência positiva do uso do etanol como cossolvente. O processo ESF mostrou alta seletividade para o composto Fitol, principalmente em altas pressões e temperaturas na presença de cossolvente. Também foi identificado outros compostos majoritários de grande interesse biotecnológico: Ascaridol, Palmitato de etila e metila, 2-tetradeceno e Esqualeno. Os extratos obtidos com o uso de soxhlet (etanol) e ESF nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% apresentaram maiores atividades antioxidantes de EC₅₀ (µg/mL) = 242,7 e 274,05 respectivamente. Conclui-se que os processos de extração das folhas de *P. aculeata* Mill. pela técnica de ESF com uso de cossolvente se mostrou eficiente quanto a seletividade de substâncias de grande interesse farmacêutico, indicando potencial aplicação na formulação de novos medicamentos de origem natural.

Palavras-chave: Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.). Fluido supercrítico. Extração com CO₂ supercrítico. Técnicas de extração. Potencial antioxidante.

ABSTRACT

Over the time, manipulation techniques of plant sources are more selective, efficient and environmentally safer. In recent years, extraction process with CO₂ in supercritical state (SFE) has stood out for its efficiency, selectivity and environmental minimum impact. In Brazil, ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) is used as food due to its high nutritional value and its healing and anti-inflammatory capacity. This work aims to evaluate the yield and composition of ora-pro-nobis extracts derived from classical extraction techniques: Soxhlet and hydrodestilation; and modern techniques: ultrasound and supercritical fluid. In addition, it was also possible to determine an antioxidant activity of the extracts by DPPH radical scavenging technique. Ethanol and hexane were used as solvent in soxhlet and ultrasound techniques. The operating conditions of the supercritical process comprised pressure ranges from 80 to 200 bar, temperature from 36 to 66 °C and 0 to 20% of co-solvent (Cs) - ethanol. The composition of extracts was evaluated by GC-MS technique. The highest yields of the processes were observed when ethanol was used as solvent: 9.71% for soxhlet, 3.01% for ultrasound and 3.83% for SFE under conditions of 140 bar, 50 °C and 20% Cs. The highest yield observed for SFE cosolvent free condition Cs was found at 170 bar 60°C, indicating a positive influence of the use of ethanol. The ESF process showed high selectivity for the Phytol compound, mainly at high temperature and pressure in the presence of co-solvent. Other major components of great biotechnological interest were also identified: Ascaridol, ethyl and methyl palmitate, 2-tetradecene and squalene. The extracts obtained through soxhlet (ethanol) and ESF techniques under conditions of 140 bar, 50 °C and 20% showed the highest EC₅₀ activities (µg/mL) = 242.7 and 274.05, respectively. It was concluded that the extraction processes of the *P. aculeata* Mill. leaves by the SFE technique with the use of co-solvent proved to be efficient in terms of the selectivity of substances of great interest, showing potential application in the formulation of new drugs of natural origin.

Keywords: Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*). Supercritical CO₂ extraction. Extraction techniques. Antioxidant potential.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ocorrência endêmica da <i>Pereskia aculeata</i> Miller	23
Figura 2 - Representação das interações entre os metabolismos primário e secundário	31
Figura 3 - Aparato utilizado no processo de hidrodestilação	46
Figura 4 - Sistema de extração tipo Soxhlet	47
Figura 5 – Equipamentos para extração por ultrassom de ponteira e banho ultrassônico	48
Figura 6 - Diagrama de fases do CO ₂	50
Figura 7 - Diagrama de fases do gás carbônico em termos de densidade	51
Figura 8 - Processo de extração utilizando o CO ₂ como fluido supercrítico	55
Figura 9 - Curva de extração com FS descrita pelo método de Sovová	57
Figura 10 - Fotografia do aparato utilizado para extração por hidrodestilação	60
Figura 11 - Fotografia do aparato utilizado na extração por Soxhlet	61
Figura 12 - Fotografia do aparato utilizado para extração por ultrassom	62
Figura 13 - Unidade de extração supercrítica	63
Figura 14 - Rendimento global de extração das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill. utilizando CO ₂ supercrítico sem o uso de cossolvente sob diferentes condições de temperatura e pressão	83
Figura 15 - Relação entre o rendimento global da extração frente a concentração de cossolvente no processo de extração com CO ₂ supercrítico de folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	85
Figura 16 - Gráficos de linhas de contorno (A) e superfície de resposta (B) do rendimento global de extração supercrítica das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill: Temperatura em função da concentração do cossolvente	86
Figura 17 - Gráficos de linhas de contorno (A) e superfície de resposta (B) do rendimento global de extração supercrítica das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill: Pressão em função da concentração do cossolvente	87
Figura 18 - Isotermas de rendimento do processo de extração com CO ₂ supercrítico das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill. com 5% de cossolvente	88
Figura 19 - Gráficos de linhas de contorno (A) e superfície de resposta (B) do rendimento global de extração supercrítica das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill: Temperatura em função pressão	90
Figura 20 - Gráfico de pareto: influência das variáveis estudadas no rendimento do processo de extração supercrítica das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	97

Figura 21 - Preditibilidade do processo de extração supercrítica de folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	94
Figura 22 - Curva de extração supercrítica normalizada para folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Miller.	95
Figura 23 - Comparação dos compostos identificados em comum nos extratos de <i>Pereskia aculeata</i> Mill. obtidos por diferentes técnicas de extração	105

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Diferenças básicas entre <i>P. grandifolia</i> e <i>P. aculeata</i>	26
Quadro 2 - Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da <i>Pereskia aculeata</i>	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades críticas de solventes utilizados em processos de extração em meio supercrítico	54
Tabela 2 – Condições experimentais de extração utilizando CO ₂ supercrítico	64
Tabela 3 – Condições experimentais utilizadas no planejamento DCCR para três fatores ...	65
Tabela 4 – Variáveis codificadas e reais utilizadas no planejamento experimental DCCR ...	65
Tabela 5 – Condições de pressão e temperatura utilizadas nos ensaios adicionais	66
Tabela 6 – Parâmetros do leito fixo	70
Tabela 7 – Compostos voláteis identificados no óleo essencial de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por hidrodestilação de acordo com a metodologia proposta por Torres <i>et al.</i> (2022) via GC-MS	72
Tabela 8 – Compostos voláteis identificados no óleo essencial de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por hidrodestilação de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS	73
Tabela 9 – Rendimento mássico global das extrações sob baixa pressão das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	74
Tabela 10 - Compostos voláteis identificados no extrato de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por Soxhlet/hexano de acordo com a metodologia proposta por Torres <i>et al.</i> (2022) via GC-MS	77
Tabela 11 – Identificação dos compostos voláteis por GC-MS presentes no extrato das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Miller pela técnica de soxhlet/hexano	77
Tabela 12 – Compostos voláteis identificados no extrato de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por Ultrassom/etanol de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS	78
Tabela 13 - Compostos voláteis identificados no extrato de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por Ultrassom/hexano de acordo com a metodologia proposta por Torres <i>et al.</i> (2022) via GC-MS	79
Tabela 14 – Compostos voláteis identificados no extrato de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por Ultrassom/hexano de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS	80
Tabela 15 – Rendimento global obtido pelo planejamento experimental DCCR para folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill. obtidos por extração com CO ₂ supercrítico com etanol como cossolvente	84

Tabela 16 – Análise ANOVA para o rendimento do processo de extração supercrítica das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill.	91
Tabela 17 – Coeficientes de regressão para a os valores do rendimento global da extração supercrítica de folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Miller.....	93
Tabela 18 - Compostos voláteis identificados no extrato de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por ESF-CO ₂ nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% Cs de acordo com a metodologia proposta por Torres <i>et al.</i> (2022) via GC-MS.	96
Tabela 19 - Compostos voláteis identificados no extrato de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por ESF-CO ₂ nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% Cs de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS.	97
Tabela 20 – Compostos voláteis identificados no extrato de <i>Pereskia aculeata</i> Miller obtido por ESF-CO ₂ nas condições de 170 bar, 60 °C e 15% Cs de acordo com a metodologia proposta por Torres <i>et al.</i> (2022) via GC-MS.....	100
Tabela 21 – Identificação dos compostos voláteis por GC-MS presentes no extrato das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Miller pela técnica de extração supercrítica nas condições de 170 bar, 60 °C e 15% Cs ...	100
Tabela 22 - Atividade antioxidante dos extratos etanólicos obtidos por diferentes técnicas de extração	106

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CER *Constant Extraction Rate*
DC *Difusion-Controlled*
DCCR Delineamento Composto central rotacional
DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EAS Extração com Água em estado Subcrítico
EFS Extração com Fluido em estado Supercrítico
EFS-CO₂ Extração com CO₂ em estado Supercrítico
ELG Extração com Líquido expandido a Gás
ELP Extração por Líquido Pressurizado
FER *Falling Extraction Rate*
FS Fluido em estado Supercrítico
GC-MS *Gas Chromatography Mass Spectrometry*
LER *Low rate extraction*
OPN Ora-Pro-Nobis
PANC Planta Alimentícia Não Convencional
SO *Stress Oxidativo*
RL Radicais livres

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	22
2.1	Objetivo geral.....	22
2.2	Objetivos específicos.....	22
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1	Ora-pro-nobis.....	23
3.2	Composição química e atividades biológicas da <i>Pereskia aculeata Miller</i>	30
3.2.1	Atividade antioxidante	34
3.3	Extração de compostos bioativos	35
3.3.1	Hidrodestilação.....	45
3.3.2	Soxhlet.....	46
3.3.3	Ultrassom	47
3.3.4	Fluido supercrítico	48
3.3.4.1	Estados da matéria: estado supercrítico	48
3.3.4.2	Extração com CO ₂ em estado supercrítico.....	522
3.3.4.3	Curvas de extração.....	56
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	588
4.1	Preparo e caracterização do material	588
4.2	Extração por Hidrodestilação.....	59
4.3	Extração por Soxhlet.....	600
4.4	Extração por Ultrassom	611
4.5	Extração com CO ₂ em estado supercrítico	622
4.5.1	Rendimento global da ESF-CO ₂	63
4.5.2	Curvas de extração	67
4.6	Análise da composição dos extratos	677
4.7	Cálculo do Rendimento global de extração	6868
3.9	Atividade antioxidante	68
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	700
5.1	Caracterização do leito de partículas	700

5.2	Extração por Hidrodestilação.....	711
5.3	Técnicas de extração sob baixa pressão	733
5.4	Extração por CO₂ em estado supercrítico.....	822
5.4.1	Rendimento do processo	82
5.4.2	Análise estatística	93
5.4.3	Curvas globais de extração	95
5.4.4	Identificação de substâncias nos extratos supercríticos de Pereskia aculeata Mill.	96
5.5	Atividade Antioxidante dos extratos de Ora-Pro-Nobis	106
6.	CONCLUSÕES	10909
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	1122
	REFERÊNCIAS.....	1133

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento construído ao longo de séculos de interação das comunidades tradicionais brasileiras (indígenas, quilombolas, ribeirinhos, vazanteiros, dentre outros) com o ambiente no qual essas sociedades vivem influi diretamente na vida e na cultura de toda nação brasileira. Por possuir a maior biodiversidade do planeta aliada com uma abastada diversidade cultural e étnica, o conhecimento tradicional acerca do uso de plantas medicinal no Brasil é potente, rico e uma fonte constante de estudos e pesquisas (BRASIL, 2016).

De forma geral, essas populações tradicionais possuem um vínculo sinérgico com o meio ambiente no qual estão inseridos. A apreensão de um sujeito ou de povo é indissociada da natureza que o cerca. As comunidades possuem relações muito específicas com as plantas. Grande parte as utiliza de forma ritualística e religiosa, uma vez que a medicina tradicional é transpassada por valores religiosos e de cunho espiritual (ALMEIDA, 2003).

Os africanos, ao se depararem com uma fauna e flora completamente diferente de sua terra de origem, tiveram de adaptar a sua nova condição. A formação de quilombos, por exemplo, foi uma das formas nas quais aquele povo reproduzia aqui o que vivia em África, se amoldando aos novos ambientes e condições, modificando e adaptando conforme necessidade, de forma a introduzir novos conhecimentos acerca de plantas e da sua relação com as espécies encontradas nas matas brasileiras. Muitas espécies de plantas medicinais e alimentícias foram trazidas com o povo africano nos navios durante a diáspora (CREPALDI e PEIXOTO, 2009).

Além disso, técnicas africanas acerca do uso de plantas, minerais e animais também influenciaram na formação do conhecimento medicinal tradicional brasileiro. Uma das técnicas afro-brasileiras mais conhecidas e utilizadas são as garrafadas (ALBUQUERQUE, 1999).

A cultura e sabedoria dos povos indígenas contribuiu e ainda contribui fortemente para a formação do conhecimento tradicional de plantas medicinais brasileiras. Os povos indígenas foram os responsáveis por disseminar conhecimento acerca da fauna, flora, geografia, alimentação, medicina, dentre outros aspectos, aos colonizadores e demais povos trazidos ao Brasil. As marcas da sabedoria indígena refletem no cotidiano do brasileiro, seja pelo consumo de espécies nativas, ou pelo uso de técnicas de manipulação desses elementos (GASPAR, 2013).

O uso terapêutico e biotecnológico de espécies medicinais e alimentícias já foi estudado de inúmeras formas. A cultura africana trouxe consigo todo um saber ritualístico e sagrado com certas plantas. O dendezeiro (*Elaeis guineensis*) é uma palmeira originária da porção ocidental da África que foi trazida ao Brasil pelo povo africano durante a diáspora. Do dendê tudo se aproveita. Sua principal forma de consumo é com o óleo extraído de seus frutos. Esse óleo serve de composição de inúmeros pratos africanos, possui uso ritualístico e medicinal. É indicado como emoliente e anti-reumático (ALMEIDA, 2011).

Agostini-Costa (2018) afirma que os estudos científicos realizados acerca da espécie *Elaeis guineensis* confirmam o valor medicinal e funcional que essa planta possui. Isso só se tornou possível devido ao conjunto de conhecimentos etnofarmacológicos reunidos acerca do longo período de uso dessa planta.

O sabugueiro é uma planta que ilustra mais um exemplo da comunicação da cultura medicinal popular brasileira com a africana. Conhecida cientificamente como *Sambucus nigra L.*, foi introduzida na medicina popular por meio do culto ritualístico dedicado a divindade Africana Obàlùàiyé. Em sua história, Obàlùàiyé é associado com a cura de doenças, principalmente às ligadas a pele. A flor de sabugueiro é utilizada como oferenda a esse Orixá e também são feitos banhos para uso em seus rituais. Na medicina popular a planta africana é conhecida por tratar sarampo. O chá de suas flores alivia a febre e tem o poder de abrir as erupções na pele, conhecido popularmente como o efeito de “puxar a doença” (ALMEIDA, 2011).

Młynarczyk, Walkowiak-Tomczak e Łysiak (2018) mostraram que as flores e frutos da *Sambucus nigra L.* são ricas em compostos bioativos, tais como anticioninas e polifenóis. Seus extratos possuem uma atividade antioxidante extremamente alta, além de possuir atividades antiviral e bactericida. Ainda que comprovadas propriedades antidepressivas e antitumorais, a capacidade antiviral encontrada nos seus frutos é a mais estudada recentemente.

Algumas plantas nativas do Brasil, popularmente utilizadas na medicina tradicional, se destacam devido ao seu uso para fins terapêuticos, principalmente de origem indígena. As plantas mais utilizadas são: Copaíba (*Copaifera officinalis*), Andiroba (*Carapa guyanensis*), Urucum (*Bixa orellana*) e Guaraná (*Paulinia cupana*). Essas espécies vegetais são bastante conhecidas no Brasil como medicinais, além de serem largamente estudadas pela ciência (ALMEIDA, 2011).

A ora-pro-nobis (*P. aculeata* Mill.) é uma planta nativa e largamente distribuída no território brasileiro. Seus principais usos populares estão relacionados a fins alimentícios, devido seu alto valor nutricional, sobretudo por seu alto teor de proteínas, característica que deu origem um dos seus nomes: “carne de pobre”. Por possuir em suas folhas um grande teor de ferro esta planta também é utilizada no tratamento de anemia. Além disso, devido sua capacidade cicatrizante, emplastos preparados com suas folhas são utilizados popularmente para no tratamento de feridas.

Os estudos das propriedades biológicas, farmacológicas e nutricionais da *Pereskia aculeata* Miller ganharam força nos últimos anos. Foram relatados altos valores de atividade antioxidante dos extratos de suas folhas, bem como atividade anti-inflamatória, antimicrobiana (PINTO *et al.*, 2016), neuroprotetiva (TORRES *et al.*, 2022a), antinociceptiva (PINTO *et al.*, 2015), anticancerígena (SOUZA *et al.*, 2016), antitripanossômica (VALENTE *et al.*, 2007), dentre outras. Estes estudos apontam para um grande potencial biotecnológico desta planta a ser explorado e com pesquisas científicas contribuir para o entendimento do potencial medicinal da ora-pro-nobis.

Nos últimos anos, técnicas de extração de substâncias de origem vegetal nas quais ofereçam alternativas sustentáveis e ambientalmente seguras têm apresentado um crescimento considerável. As técnicas de extração clássicas, tais como soxhlet, hidrodestilação, contam geralmente com baixa eficiência, uso de solventes orgânicos e longo tempo de operação. O estudo da utilização de técnicas de extração nas quais sejam suficientemente eficientes, do ponto de vista técnico, econômico e ambiental se tornam de grande interesse da comunidade científica. Obtendo destaque aquelas técnicas livres de solventes de origem fóssil, com seletividade, baixo custo e tempo de operação se tornam atrativas como objeto de estudo.

O uso do gás carbônico em estado supercrítico, como fluido extrator de biocompostos de origem vegetal, apresenta características ímpares nas quais tornam o seu uso vantajoso em relação às técnicas convencionais supracitadas. As principais vantagens são a produção de um extrato livre de solventes, principalmente de origem fóssil, alta eficiência, seletividade, e a possibilidade de operação em baixas temperaturas. Sua principal desvantagem está relacionada a polaridade do gás carbônico, que é baixa, sendo pouco eficiente na solubilização de substâncias polares. No entanto, para se contornar esta condição, podem ser utilizadas substâncias polares como cossolventes, tais como etanol e até mesmo água, aumentando assim

a eficiência de extração de substâncias polares nas quais o CO₂ não possui capacidade de solubilização.

Neste contexto, afim de contribuir para os estudos feitos com a planta *Pereskia aculeata Miller*, este trabalho buscou avaliar a extração dos biocompostos presentes em suas folhas sob diferentes técnicas de extração, tanto as clássicas como hidrodestilação e shoxhlet, quanto outras mais modernas, como a extração com CO₂ em estado supercrítico com e sem a presença de cossolvente e por ultrassom.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Obter extratos vegetais da espécie *Pereskia aculeata* Miller sob diferentes técnicas de extração, com o intuito de identificar os compostos bioativos presentes.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos são:

- a) Obter extratos vegetais de *Pereskia aculeata* Mill. a partir das técnicas de baixa pressão – ultrassom e Soxhlet, utilizando solventes de polaridades opostas;
- b) Extrair o óleo essencial da *Pereskia aculeata* Mill. por hidrodestilação;
- c) Avaliar as condições experimentais de temperatura e pressão, a fim de se obter condições ideais para extração utilizando CO₂ supercrítico com e sem adição de cosslvente;
- d) Determinar e comparar o rendimento dos processos de extração avaliados;
- e) Identificar e comparar as substâncias presentes nos diferentes extratos obtidos usando a técnica de GC-MS (Cromatografia Gasosa acoplada a espectrofotometria de massa) bem como a seletividade das técnicas aplicadas;
- f) Determinar a curva de extração supercrítica;
- g) Determinar o potencial antioxidante dos extratos obtidos no estudo pela técnica de redução do radical DPPH.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Ora-pro-nobis

O ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) é uma planta que, por apresentar características únicas, possui um uso diverso e é largamente consumida no Brasil. Uma das suas características de maior destaque é o alto valor nutricional de suas folhas, tornando o seu uso como alimento o mais conhecido. Suas propriedades emolientes são exploradas na medicina popular, no qual as folhas maceradas são aplicadas sobre pele, pois acredita-se que a planta possui ação anti-inflamatória e cicatrizante. As folhas também são utilizadas no tratamento de anemia, osteoporose, constipação intestinal e câncer (ALMEIDA *et al*, 2014) .

É uma planta nativa das Américas, distribuída desde o México e algumas regiões da Flórida, na América do Norte e Central, até a Argentina. No Brasil, a espécie é encontrada da Bahia ao Rio Grande do Sul (TRENNEPOHL, 2016). A distribuição da *Pereskia aculeata* Miller está representada na Figura 1.

Figura 1 – Ocorrência endêmica da *Pereskia aculeata* Miller



Fonte: Pinto (2012).

Sua diversa ocorrência fez dela conhecida por vários nomes distintos. No Brasil a Ora-Pro-Nobis (OPN) também recebe os nomes de cipó-santo, lobrobô ou lobrobó,

mata-velha, rosa-madeira, trepadeira-limão, jumbeba, espinho-preto, espinho-de-Santo-Antônio, surucucu, azedinha, groselha-das-américas e groselha-de-barbados. No idioma guarani, é conhecida como *guaiapá* (planta que dá frutos com espinhos). É conhecida por *guamacho* na Venezuela, *hungavilla blanca* no México, *bladappel* no Suriname e ramo de noiva e grosello em Cuba. A planta ainda possui alguns nomes de língua inglesa, tais como *barbados gooseberry*, *Spanish gooseberry*, *leaf cactus*, *lemon vine*, *Sweet maeey*, dentre outros (PERESKIA ACULEATA, 2020; LIMA JÚNIOR, 2011; CAMPOS *et al.*, 2017).

O nome ora-pro-nobis vem do latim e significa “rogai por nós”. De acordo com uma lenda local a planta que crescia nos fundos de uma igreja era utilizada como alimento pelas pessoas pobres. Elas deveriam esperar a missa começar para colher as folhas sem que o padre visse. As pessoas aguardavam o padre dizer “Ora-pro-nobis” para garantir que ele não estaria próximo a planta e então colhiam as folhas que receberam o nome de ora-pro-nobis (TRENNEPOHL, 2016.) Devido ao seu alto valor nutricional, principalmente seu elevado teor de proteína a planta também é conhecida como “carne de pobre”. (SANTOS; SANTOS; MARISCO, 2018).

A espécie foi introduzida pelo ser humano em outras regiões fora do continente americano. Sua ocorrência é observada em países do sul da África, como KwaZulu-Natal e África do Sul, no qual é tida como erva daninha em plantações e na vegetação nativa do país; no leste asiático em países como Myanmar, China, Malásia e Vietnã, e Austrália e Havaí na Oceania (PATERSON; DOWNIE; HILL, 2009).

Apesar de seu alto valor nutricional e medicinal, seu uso ainda é restrito a algumas culturas e regiões sendo considerada uma PANC (Planta Alimentícia Não-Convencional) pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 2010). No entanto, no estado de Minas Gerais, maior produtor e consumidor brasileiro, a ora-pro-nobis é um alimento bem difundido na alimentação mineira, fugindo da classificação de não-convencional. Na cidade de Sabará, na região central do estado, anualmente é celebrado o festival gastronômico do ora-pro-nobis, ressaltando a importância da planta na alimentação e cultura regionais (MERGAREJO NETTO, 2014).

Ora-pro-nobis é o nome dado a duas espécies do gênero *Pereskia* encontrados na fauna nativa de todo Brasil, a *Pereskia aculeata* Mill. e *Pereskia grandifolia*. No Quadro 1 são mostradas as diferenças estruturais entre essas duas espécies. Esse gênero conta com um total de 17 espécies, todas com características bem semelhantes entre si. As espécies catalogadas são *P. aculeata*, *P. aureiflora*, *P.*

grandifolia, *P. nemorosa*, *P. sacharosa*, *P. zinniiflora*, *P. cubensis*, *P. weberiana*, *P. sacharosa*, *P. quisqueyana*, *P. diaz-romeroana*, *P. marcanoi*, *P. portulacifolia*, *P. bahiensis*, *P. bleo*, *P. lychnidiflora* e *P. horrida* (EDWARDS; NYFFELER; DONOGHUE, 2005).

Dentre os 127 gêneros que compõem a família *Cactaceae*, o *Pereskia* é conhecido por reter uma maior quantidade de características de seus ancestrais no decorrer de seu processo evolutivo, por esse motivo, as espécies do gênero são conhecidas como “cactos ancestrais” ou “cactos primitivos”. Os principais caracteres preservados foram: a presença de um tronco lenhoso ou semilenhoso e não-suculentos em algumas espécies; folhas bem desenvolvidas, persistentes, fotossintetizantes e suculentas; caules finos e pouco espinhosos; inflorescência disposta em cimeiras; grande quantidade de estiletos e hábitos arbóreos e arbustivos (EDWARDS; DONOGHUE, 2006; EDWARDS; NYFFELER; DONOGHUE, 2005).

A ora-pro-nobis faz parte da alimentação de muitos brasileiros, por seu fácil acesso, simplicidade de cultivo, crescimento rápido e elevado valor nutricional. Garcia *et al.* (2019) a consideram um superalimento, devido ao seu alto teor de nutrientes. Além disso, a planta ainda se destaca por seu uso medicinal, mesmo que este uso ainda seja menos conhecido. No saber popular a planta é indicada como fortificante para a pele e auxiliadora na cicatrização de queimaduras. Suas folhas ainda são utilizadas como emoliente para atenuar processos inflamatórios e auxilia no tratamento de tumores. Os frutos são utilizados como agente antissifilítico e possui ação expectorante (SARTOR *et al.*, 2010).

De acordo com Santos, Santos, Marisco (2018) a ora-pro-nobis possui características biológicas e nutricionais de grande relevância para a pesquisa científica. Seu uso popular e suas características agrônômicas tornam ainda mais importante os estudos acerca dela, que são escassos. Silva *et al.* (2017) destacam que trabalhos sobre as características químicas e a capacidade antioxidante de partes da planta ainda são insuficientes.

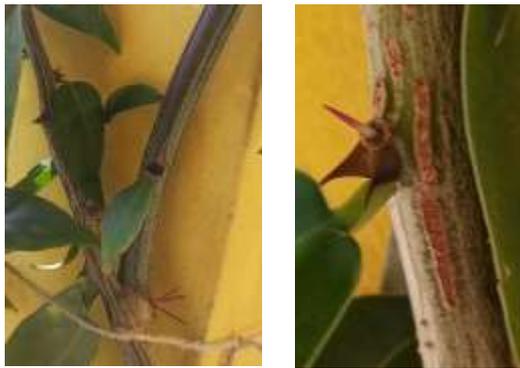
Quadro 1 – Diferenças básicas entre *P. grandifolia* e *P. aculeata*

(Continua)

Espécie	<i>Pereskia grandifolia</i>	<i>Pereskia aculeata</i> Mill.		
Características				
Folhas		<p>São folhas simples, oblongadas de formato ovado a obovado e sustentadas por um pecíolo. Possuem textura coriácea e são levemente carnosas. Contém altos teores de mucilagem. Suas folhas são grandes, característica essa que a nomeia. Seu comprimento médio é de 10,0 cm de comprimento e 4,0 cm de largura. (FARAGO <i>et. al.</i>, 2004)</p>		<p>Folha simples, simétrica e de formato elíptico com ambas extremidades agudas. Concentram altos teores de mucilagem e possui textura coriácea. Suas dimensões médias são 7 cm de comprimento e 3 cm de largura (DUARTE; HAYASHI, 2005).</p>
	Fonte: Leuenberger (2007)		Fonte: Elaborado pelo autor (2022)	

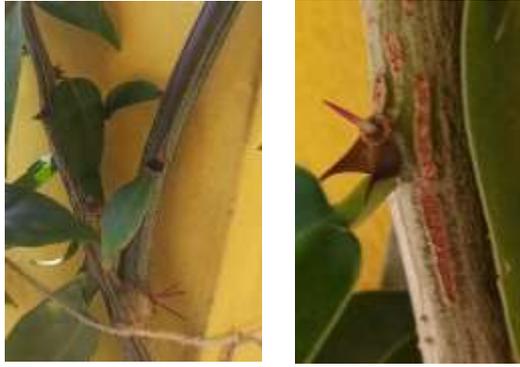
Quadro 1 – Diferenças básicas entre *P. grandifolia* e *P. aculeata*

(Continua)

Espécie	<i>Pereskia grandifolia</i>	<i>Pereskia aculeata</i> Mill.	
Características			
Caule	 <p data-bbox="824 767 1182 903">Tronco lenhoso, espesso e esverdeado no qual estão dispostos os feixes de espinhos (SOUZA, 2014).</p>		<p data-bbox="1765 576 2101 1046">Possui caules lenhosos finos, alongados e bem-desenvolvidos. De suas auréolas emergem dois espinhos curvos, localizados na base do pecíolo. À medida que o tronco envelhece, novos espinhos em formato de agulhas surgem, formando assim feixes de espinhos (DUARTE; HAYASHI, 2005, ESTRADA-CASTILLO <i>et. al.</i>, 2019).</p>
	<p data-bbox="421 1054 685 1086">Fonte: Silveira (2015)</p>	<p data-bbox="1256 1054 1675 1086">Fonte: Elaborado pelo autor (2022)</p>	

Quadro 1 – Diferenças básicas entre *P. grandifolia* e *P. aculeata*

(Continua)

Espécie	<i>Pereskia grandifolia</i>	<i>Pereskia aculeata</i> Mill.		
Características				
Caule		<p>Tronco lenhoso, espesso e esverdeado no qual estão dispostos os feixes de espinhos (SOUZA, 2014).</p> <p>De coloração rosa, as flores são dispostas em cimeiras terminais (SOUZA, 2014)</p>		<p>Possui caules lenhosos finos, alongados e bem-desenvolvidos. De suas auréolas emergem dois espinhos curvos, localizados na base do pecíolo. À medida que o tronco envelhece, novos espinhos em formato de agulhas surgem, formando assim feixes de espinhos (DUARTE; HAYASHI, 2005, ESTRADA-CASTILLO <i>et. al.</i>, 2019).</p>
	<p>Fonte: Silveira (2015)</p>		<p>Fonte: Elaborado pelo autor (2022)</p>	
Flores		<p>De coloração rosa, as flores são dispostas em cimeiras terminais (SOUZA, 2014)</p>		<p>Possui numerosa inflorescência panicular. Suas pequenas flores brancas, dispostas em cimeiras, apresentam um diâmetro que varia de 2,5 a 4,5 cm (ESTRADA-CASTILLO <i>et. al.</i>, 2019)</p>
	<p>Fonte: Maciel, Yoshida e Goycoolea (2019)</p>		<p>Fonte: Trennepohl (2016)</p>	

Quadro 1 – Diferenças básicas entre *P. grandifolia* e *P. aculeata*

(Conclusão)

Espécie	<i>Pereskia grandifolia</i>	<i>Pereskia aculeata</i> Mill.
Características		
Frutos	 <p data-bbox="824 687 1189 890">São bagas piriformes de formato achatado e anguloso. Quando maduros, apresentam uma coloração verde-amarelada (SOUZA, 2014).</p>	 <p data-bbox="1756 555 2121 1023">Fruto pomáceo de característica cactídea. Quando maduros apresentam uma coloração que pode variar do amarelo ao vermelho. Possuem formato esférico. São caracterizados por possuir pericarpo e um hipanto carnoso preenchido por uma massa gelatinosa na qual se encontram as sementes (ROSA; SOUZA, 2003).</p>
	Fonte: Leuenberger (2007)	Fonte: Leuenberger (2007)

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

3.2 Composição química e atividades biológicas da *Pereskia aculeata* Miller

Os seres vivos orquestram inúmeras reações bioquímicas que, de forma coordenada, desempenham os mais diversos papéis para a formação e manutenção da vida. O conjunto de reações bioquímicas que ocorrem numa célula é conhecido por metabolismo (VIJAYAKUMAR; RAJA, 2018).

Os processos metabólicos podem ser divididos basicamente em dois grupos, de acordo com a função de suas reações. O metabolismo primário é o responsável pelas reações que estão ligadas a necessidades essenciais a vida, tais como obtenção e síntese de nutrientes, crescimento e armazenamento de energia. Os metabólitos primários, produto destas reações, são encontrados em todos os organismos que possuem uma ou mais células capazes de se dividirem. Nas plantas, o metabolismo primário corresponde ao conjunto de vias reacionais que atuam em todo processo fotossintético, na produção de aminoácidos, proteínas, ácidos nucléicos, hormônios, carboidratos e ácidos graxos, sendo utilizado como fonte para alimentação e nutrição dos organismos que as consome (SIDDIQ; UBERSAX, 2018).

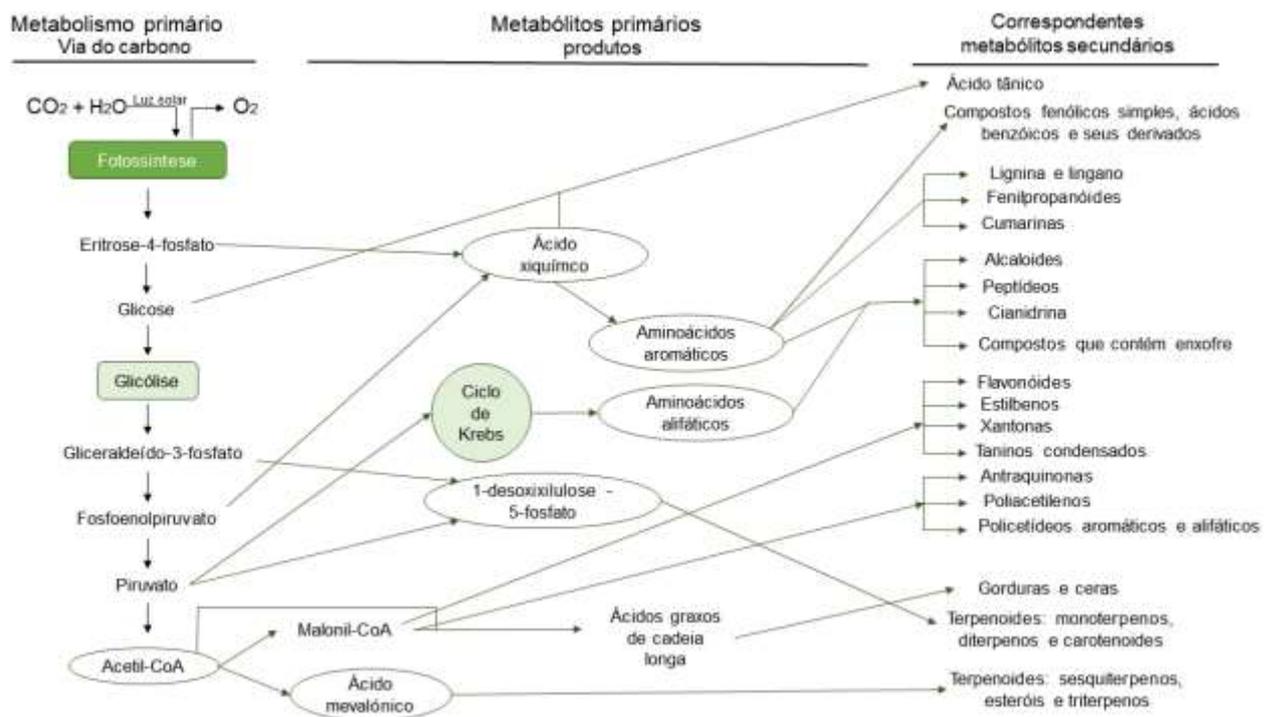
A ora-pro-nobis é famosa pelo seu valor nutricional, principalmente pelo elevado teor de proteínas de suas folhas. Takeite *et al.* (2009) encontraram cerca de 28,04% de proteínas nas folhas secas de OPN (Ora-Pro-Nobis)), valor superior a outras hortaliças convencionais conhecidas por serem boas fontes de proteína, tais como espinafre que contém 3,2%, agrião 2,6% e folhas de batata doce com 3,8% de proteínas totais (SALAZAR, *et al.*, 2006; ISHIDA *et al.*, 2000). A composição nutricional dos metabólitos primários da OPN foi avaliada por Barbalho *et al.* (2016) e foram encontrados um teor de 48,39% de carboidratos, 32,80% de fibras totais, 24,17% de proteínas, 3,71% de gorduras e 17,83% de cinzas.

O metabolismo secundário é responsável pelo conjunto de reações bioquímicas que não estão ligadas diretamente com a sobrevivência de um organismo vivo. No entanto, a sua falta não resultaria numa morte instantânea, mas sim na redução expressiva da capacidade de sobrevivência daquele organismo, já que estas substâncias desempenham um papel central em sua na adaptação e defesa. Suas principais funções estão ligadas ao transporte de íons metálicos, agentes reprodutivos, a produção de substâncias defensivas contra outros seres vivos e a comunicação e simbiose entre organismos. Nas plantas, essas substâncias possuem efeitos protetores contra parasitas, herbívoros e patógenos, atraem polinizadores e

dispersores de sementes, conferem a cor, sabor e cheiro aos alimentos, dentre inúmeras outras funções específicas (VIZZOTO; KROLOW; WEWEBER, 2010; SIDDIQ; UBERSA, 2018).

De acordo com a Figura 2, os metabólitos secundários vegetais têm sua origem a partir de uma via metabólica primária, de algum produto ou semi-produto reacional oriundo dessa mesma via. Eles podem ser sintetizados por bactérias, fungos, protozoários, algas, plantas e animais. Dentre toda diversidade de compostos orgânicos de origem natural conhecidos, 80% de todos os metabólitos secundários catalogados são de origem vegetal. Esse valor corresponde a cerca de 600 a 700 mil substâncias diferentes, dentre elas 200 mil compostos bioativos, sendo cerca 25 mil compostos com efeito antibiótico (VIJAYAKUMAR; RAJA, 2018).

Figura 2 – Representação das interações entre os metabolismos primário e secundário



Fonte: Vijayakumar e Raja, 2018. (Adaptado)

Os metabólitos secundários são substâncias são de grande importância para o ser humano, uma vez que podem ser metabolizadas por outros organismos. Muitas possuem efeitos benéficos à saúde humana, sendo de extrema importância para a medicina, sendo os princípios ativos da grande maioria dos medicamentos produzidos

até os dias de hoje. Seus mecanismos de ação e atuação no organismo variam de acordo com o tipo de metabólito, que podem ser divididos em quatro grupos de acordo com sua origem conforme Dhanarasu (2012):

- a) Terpenos – São o maior grupo de metabólitos secundários, contando com cerca de 40 mil substâncias catalogadas. Derivados da molécula 1-desoxixilulose-5-fosfato, possuem uma unidade básica de 5 carbonos, o isopreno (C5). Essas unidades básicas se fundem repetidamente, gerando assim os grupos de terpenos. Podem ser classificados de acordo com a quantidade de grupos (C5) presentes em suas moléculas. São estes os monoterpenos (C10, compreendem aos óleos e substâncias voláteis), sesquiterpenos (C15, óleos essenciais e substâncias voláteis), diterpenos (C20, giberlinas), triterpenos (C30, limonoides), tetraterpenos (C40, carotenoides), e ainda esteróis, esteroides, poliprenóis (fitol) e politerpenos (borracha natural).
- b) Compostos fenólicos – Essas substâncias têm por característica principal a presença de pelo menos um anel aromático ligado a pelo menos uma hidroxila em sua estrutura. Essa classe possui uma diversa variedade de grupos que são classificados de acordo com a quantidade de carbonos em seu esqueleto aromático, incluindo seus radicais, tais como: os ácidos fenólicos (C6-C1); ácidos fenilacéticos (C6-C2), ácidos hidroxicinâmicos, cumarinas e cromonas (C6-C3); naftoquinonas (C6-C4); xantonas (C6-C1-C6); estilbenos e antraquinonas (C6-C2-C6); flavonoides (C6-C3-C6); lignanos e neolignanos ($[(C6-C3)_2]$), biflavonoides ($[(C6-C3-C6)_2]$), lignina ($[(C6-C3)_n]$), melanina ($[(C6)_n]$) e taninos condensados ($[(C6-C3-C6)_n]$);
- c) Alcaloides – São compostos que possuem nitrogênio em sua composição. Sua grande maioria possui cadeia cíclica com pelo menos um nitrogênio em seu anel. Podem ser agrupados de acordo com características que possuem em comum. Os grupos que se originam dos aminoácidos são conhecidos como protoalcaloides ou alcaloides verdadeiros. Caso derivem de outras fontes como monoterpenos, diterpenos, policetídeos, dentre outras substâncias, são chamados de pseudoalcalóides. Esse grupo conta com cerca de 12000 substâncias, sendo que muitas dessas possuem efeito tóxico para os seres humanos, enquanto outras já são de uso comum como

a cafeína e saponinas, além do uso médico dos opioides como morfina e codeína;

- d) Compostos contendo enxofre – Esse pequeno grupo conta com cerca de 200 substâncias catalogadas e correspondem aquelas que possuem enxofre em sua composição, dentre eles estão os glucosinolatos e seus derivados, sulfóxidos de cisteína, dialilsulfatos e ditiolionas.

Garcia *et al.* (2019) realizaram análises fitoquímicas e de atividade biológica dos extratos das folhas da planta OPN. Foram identificados de 10 compostos fenólicos diferentes, podendo ser reunidos em dois grupos. O primeiro é composto por 8 oito flavonoides derivados de glicosídeo de quercetina, kaempferol e isorhamnetina. O segundo é composto por dois ácidos fenólicos derivados do ácido cafeico. O principal componente identificado foi de ácido cafeico, contribuindo com uma porcentagem de 46% no extrato, seguida por 14,99% de quercetina-3-O-rutinósido e 9,56% isorhamnetina-O-pentosido-O-rutinósido como compostos majoritários. Essas substâncias são conhecidas pela sua ação antioxidante, sendo assim foram feitos ensaios da capacidade antioxidante dos extratos utilizando o método de redução do radical DPPH, apresentando uma atividade considerada alta, valores acima de $IC_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$. Também foram identificadas capacidades antimicrobianas dos extratos, sendo inibidora de algumas bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Vários compostos de interesse farmacêutico já foram isolados nas folhas da *P. aculeata*. Agostini-Costa *et al.* (2014) encontraram altos níveis de carotenoides nas folhas e nos frutos da *Pereskia aculeata*. Os níveis de β -caroteno encontrados variam de uma faixa de 13,8 a 47,0 $\mu\text{g/g}$, luteína de 45,8 a 114,2 $\mu\text{g/g}$, α -caroteno de 5,0 a 35,1 $\mu\text{g/g}$ e zeaxantina acima de 5,0 $\mu\text{g/g}$. Souza *et al.* (2016) concluíram que o óleo essencial da ora-pro-nobis é rico em serquiterpenos e fonte de substâncias como 1-nonadecen-ol, (5E,9E)-farnesil e (Z, Z) -metil-4,6-hexadecadieno acetona. Substâncias como Nerolidol, Ácido palmítico, Éster metílico do ácido linoleico e Fitol foram encontradas por Pinto *et al.* (2015) e β -Ionona, α -Muurolol, ar-Tumerona, (Z)-3-Hexanil salicilato, 2-hexyl-(E)-Cinamaldeído, 1-Octadeceno e 2-Etil-hexil salicilato por Souza *et al.* (2016), todas conhecidas por possuírem atividades antioxidante.

O triptofano é uma proteína encontrada em grande abundância nas folhas de OPN. Possui uma função percussora na produção de indol, um alcalóide de estrutura semelhante a aminas bioativas. Sendo assim, a *P. aculeata* se destaca pela presença

de alcaloides em seus metabólitos. Já foram isolados e identificados a triptamina, mescalina, hordenina e abrina. Essas substâncias atuam no sistemas adrenérgico, serotoninérgico, dopaminérgico e colinérgico, conferindo as características antinociceptivas dessa planta (PINTO, 2012 ; 2015).

As propriedades biológicas dos extratos da ora-pro-nobis são estudadas a fim de se conhecer as capacidades terapêuticas da planta. Santos, Santos, Marisco (2018) apontam que as atividades biológicas dessa espécie estão ligadas principalmente a ação cicatrizante, antinociceptiva, antiproliferativa e nutricional.

Valente *et al.* (2007) verificaram que os extratos aquosos da *Pereskia aculeata* apresentaram atividades antitripanocida enquanto o extrato diclorometano/metanol (1:1) foi responsável por inibir o crescimento de células tumorais. O extrato bruto das folhas da planta foi aplicado em feridas cutâneas de grupos de ratos Wistar adultos e notou-se uma melhora significativa da cicatrização do grupo que utilizava o extrato quando comparado ao grupo de controle. Foi observado uma produção fibroblástica e vascular mais intensa após o 14º dia de pós-operatório, promovendo uma reação inflamatória leucocitária benéfica ao processo de cicatrização (SARTOR *et al.*, 2010).

3.2.1 Atividade antioxidante

O metabolismo de moléculas como carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos e ácidos graxos poli-insaturados realizado por organismos aeróbios conta com etapas de oxidação dessas moléculas para obtenção de energia. Alguns subprodutos destas reações são conhecidos como Radicais Livres (RL), são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons livres, o que os tornam espécies químicas extremamente reativas, realizando funções de extrema relevância em organismos vivos devido a suas funções homeostáticas, pois atuam como intermediários em reações de oxi-redução, desintoxicação e síntese de mediadores inflamatórios, por exemplo (LÓPEZ; CORTÉS, 2013.).

Uma quantidade excessiva de oxigênio ou sua baixa redução propiciam um aumento na quantidade de radicais livres em um organismo vivo. Devido ao seu caráter extremamente reativo, os RL em excesso facilmente reagem com várias moléculas, causando oxidação de diversas substâncias, desnaturando enzimas e proteínas, proporcionando a inativação e perda de função de biomoléculas, mutações no DNA e até mesmo a morte celular (LÓPEZ; CORTÉS, 2013). Para contornar os

seus efeitos deletérios, os organismos vivos, principalmente os aeróbios, desenvolveram alguns mecanismos para equilibrar a quantidade desses radicais, evitando assim seus danos. Algumas saídas estão relacionadas a mecanismos de reparo e prevenção, defesas físicas e com o de substâncias antioxidantes. Diversas classes de substâncias possuem ação antioxidante, podendo ser classificadas como enzimáticas, tais como a catalase, superóxido dismutase e glutathione peroxidase e não-enzimáticas, por exemplo, carotenoides, flavonoides, glutathione e vitaminas C e E. Uma quantidade de radicais livres em desequilíbrio com as substâncias antioxidantes conduz as células a um estado conhecido com Stress Oxidativo (SO), causando danos graves à saúde daquele organismo (VALKO *et al.*, 2007).

Em seres humanos o SO pode ser causado por diversos fatores, tais como idade, exposição aos raios UV, poluição e outros fatores sociais como diferentes tipos de dietas e ingestão de drogas (LÓPEZ; CORTÉS, 2013). Doenças de cunho oxidativo, como o câncer, surgem ou são agravadas em decorrência a exposição a esses fatores. Sendo assim, o consumo de substâncias antioxidantes é fundamental para a promoção e manutenção da saúde humana. Grande parte dos metabólitos secundários das plantas conseguem reduzir os efeitos do SO devido sua atividade antioxidante, principalmente os compostos fenólicos, que por sua vez se destacam devido a sua atividade anticancerígena (ROLEIRA *et al.*, 2015).

Existem diversas maneiras de se determinar a atividade antioxidante de extratos vegetais. As mais comuns são pela redução dos radicais DPPH e ABTS, que se destacam por sua simplicidade e baixo custo. O DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) é um radical livre estável que reage com substâncias doadoras de prótons. O método se baseia na leitura da absorção de um comprimento de onda a 515 nm após a redução do radical na presença do extrato vegetal. A solução de DPPH é preparada em metanol e em seguida o extrato é adicionado a ela em diferentes concentrações. O decaimento na absorbância após 30 minutos de reação indica atividade antioxidante do extrato (KRISHNAIAH; SARBATLY; NITHYANANDAM, 2011).

3.3 Extração de compostos bioativos

A extração de substâncias bioativas consiste num processo no qual compostos de medicinalmente ativos são separados de porções de plantas ou tecidos animais, fúngicos e etc. com o uso de um determinado solvente inerte ou inativo e por meio de

uma determinada técnica de extração. O produto de uma extração é denominado extrato e geralmente em plantas é caracterizado por ser um líquido impuro podendo conter uma ou mais fases. A composição de um extrato vegetal está intimamente ligada com o método de extração empregado e o solvente utilizado. Algumas substâncias possuem afinidade muito específica com determinados solventes em certas condições, sendo assim é importante avaliar os extratos vegetais por técnicas distintas de extração (HANDA *et al*, 2008).

As técnicas de extração são diversas e estão presentes no nosso dia-a-dia. A mais conhecida e usada ao redor do mundo, principalmente no trato medicinal popular, são as infusões em forma de chás. Dentre algumas delas, as técnicas de hidrodestilação, Soxhlet, ultrassom e fluido supercrítico foram definidas para serem estudadas nesse trabalho.

Alguns autores realizaram estudos com extratos do ora-pro-nobis com objetivos mais variados. Muitos se basearam na investigação do uso medicinal popular ou alimentício da planta. No Quadro 2 é mostrado a relação de alguns trabalhos realizados com a técnica de extração aplicada:

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(continua)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor(es)
Infusão direta em solvente (Metanol e HCl em diferentes concentrações) sob refluxo	Folhas	Investigação da composição de substâncias fenólicas. Os ácidos clorogênico, caféico p-cumárico e ferúlico foram os compostos majoritários encontrados	Souza (2014)
Maceração e infusão na presença dos solventes: água, metanol e etanol.	Folhas	Avaliação da atividade antioxidante com auxílio do método de redução do radical DPPH. Os extratos que apresentaram maiores atividades foram os metanólicos e etanólicos.	Souza (2014)
Infusão direta nos solventes água e álcool 70% sob agitação constante a temperatura e tempos diferentes	Folhas	As técnicas de atividade antioxidante utilizadas foram as de redução dos radicais DPPH, FRAP e ABTS. O melhor resultado de atividade antioxidante para o método DPPH foi de IC_{50} (mg/mL) = 29,21 utilizando uma extração com água deionizada a 25°C por 24h. Para o método de FRAP foi observado um resultado 6,54 $\mu\text{mol TEAC} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para os extratos obtidos em água deionizada a 95°C por um tempo de extração 1 h. Para o método do radical ABTS, o extrato que apresentou maior atividade foi aquele no qual foi submetido a infusão com água deionizada 95°C por uma hora, obtendo um valor de 5,20 $\mu\text{mol TEAC/g}$.	Rodrigues (2016)

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(continua)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor(es)
Soxhlet	Folhas	Essa técnica foi utilizada para determinar o teor total de lipídios presente nas folhas da planta. O solvente utilizado foi o éter de petróleo. Foi encontrado um total de 2,87% de lipídeos.	Guimarães (2018)
Soxhlet	Folhas	Utilizando o éter de petróleo como solvente, esse método foi utilizado para a determinação do teor total dos lipídeos, sendo encontrado um valor de 2,4 g/100 g de amostra liofilizada das folhas.	Trennepohl (2016)
Hidrodestilação	Folhas	O autor estudou a influência do processo de secagem no rendimento total da extração do óleo essencial da <i>P. aculeata</i> . A técnica de hidrodestilação foi utilizada para obtenção do óleo. Diversas substâncias foram identificadas, dentre elas 41,17% pertencentes a classe de sesquiterpenos, 23,5% de fenilpropanoides, 5,88% de diterpenos, dentre outros tipos de substâncias (29,42%). Os compostos majoritários foram Acorona (20,2%), isotorquatona (19,87%), fitol (18,75%), 2-hexil-(E)-cinnamaldeído (13,5%), (Z)-3-hexenil salicilato (11,83%), estearato de metila (9,35%) e ácido linoleico (8,25%).	Hoscher (2019)

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(continua)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor(es)
Infusão direta em metanol	Folhas e farinha das folhas	A matriz vegetal foi agitada juntamente com metanol por um período de 2 minutos. O extrato obtido foi centrifugado e rotaevaporado. Em seguida as amostras foram resuspensas em solução ácida para avaliação da capacidade de adesão das bactérias <i>Lactobacillus casei</i> . em células epiteliais intestinais Caco-2. Não foram observadas influências na aderência dos probióticos nas células do epitélio intestinal. Além disso, o consumo da farinha das folhas foi associado a perda de peso em homens que participaram do estudo.	Vieira <i>et al.</i> (2019)
Turboextração	Folhas	Os extratos foram obtidos pela técnica de turbodestilação utilizando etanol 95% como solvente por 5 min. O material foi filtrado e o extrato foi rotaevaporado. Foram avaliados o potencial antioxidante do extrato hidroalcolico pelo do método de redução do radical DPPH e foi observado um total de 19,92% SA para os extratos. Além disso, os autores concluíram que mucilagem das folhas agiu benéficamente no fibroblasto de células L929 de rato, contribuindo positivamente com processos de cicatrização.	Carvalho <i>et al.</i> (2014)

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(continua)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor(es)
Infusão	Folhas	As folhas secas foram trituradas e deixadas em contato com etanol por 48h e em seguida foi filtrado. O filtrado foi concentrado rotaevaporação e em seguida liofilizado. O pó obtido foi ressuspenso em Twin 20 numa concentração de 50 mg/mL e aplicado em feridas cutâneas de ratos machos da linhagem wistar. Os autores observaram uma influência do extrato na cicatrização das feridas devido a melhora da proliferação vascular e fibroblástica e reepitelização das feridas nos animais, concluindo assim que os extratos possuem uma ação cicatrizante.	Sartor <i>et al.</i> (2010).
Infusão	Farinha de folhas	Os extratos hidroalcólicos foram obtidos pela infusão da farinha das folhas secas deixadas em contato com uma solução de etanol 70% com agitação de 130 rpm por 2 h em abrigo da luz. A mistura foi filtrada e concentrada por evaporação e posteriormente liofilizada. Os autores avaliaram a atividade antioxidante, hepatotoxicidade e atividade antibacteriana dos extratos. Foi observado ausência de hepatotoxicidade em células PLP2, inibição do crescimento de cultivo de bactérias tanto gram-positivas quanto gram-negativas.	Garcia <i>et al.</i> (2019)

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(continua)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor(es)
Maceração	Folhas	As folhas foram secas e maceradas com metanol até a sua exaustão. O sistema foi filtrado e concentrado por rotaevaporação. Em seguida o extrato foi fracionado por partição ao se adicionar hexano como solvente. Foi testada a capacidade anti-inflamatória dos extratos hexânicos utilizada em dermatite aguda e crônica de ouvidos de camundongo. Os autores observaram que os extratos reduziram significativamente os processos inflamatórios estudados e apontam que a atividade anti-inflamatória da <i>P. aculeata</i> como uma área promissora a ser estudada.	Pinto <i>et al.</i> (2015)
Hidrodestilação	Folhas	Investigação da composição do óleo essencial. Os compostos majoritários encontrados foram Fitol (29,4%), ácido hexadecanóico (17,4%), ácido linoleico (17,4%) e 6-methyl- α -Ionona (7,2%)	Souza (2014)

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(continua)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor(es)
<p>Soxhlet (solventes: hexano e etanol)</p> <p>ESF na pressão de 25 MPa e nas seguintes temperaturas: 40, 50 e 60 °C.</p> <p>Extração por Líquido Pressurizado (ELP). Solventes água e etanol. Pressão de operação 10 MPa e nas seguintes temperaturas: 80, 50 e 110 °C.</p>	Folhas	<p>Foram avaliados os rendimentos, atividade antioxidante e atividade neuroprotetiva dos extratos das folhas de ora-pro-nobis por diferentes técnicas. Os maiores rendimentos foram observados para os processo de soxhlet (etanol) e fluido pressurizado (etanol a 110 °C), obtendo resultados de 15,08% e 13,09%, tendo esta última condição obtendo também maior quantidade de compostos fenólicos extraídos. As maiores atividades antioxidantes observadas foram para a técnica de ELP utilizando água a 80 °C, obtendo valores de EC₅₀ de 0,31 mg/mL para a técnica de redução do radical DPPH e 0,25 mmol_{TE}/g para a técnica de FRAP. Foi observado que os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou solvente de caráter polar. Além disso, os autores observaram que os extratos obtidos apresentaram atividade anti-inflamatória e neuroprotetiva.</p>	Torres <i>et al.</i> (2022a)

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(continua)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor (es)
<p>Utilizou-se a extração sequencial combinando as técnicas de Soxhlet + ELP; ESF + ELP (solvente – água); ESF + ELP (solvente – etanol); ELP (etanol) + ELP (água) e ESF + ELP (etanol) + ELP (água)</p>	<p>Folhas</p>	<p>Os autores avaliaram o rendimento, atividade antioxidante (ABTS, DPPH e FRAP) e total de compostos fenólicos dos extratos obtidos por meio de técnicas de extração sucessivas. O maior rendimento acumulado foi resultante da combinação dos processos de ESF + PLE (etanol) + PLE (água), obtendo um total de 18,82%, mostrando que a combinação de processos favoreceu o rendimento global do processo. Os processos nos quais a água foi utilizada como solvente apresentaram maior atividade antioxidante e os ensaios nos quais se utilizou etanol apresentaram maior teor de compostos fenólicos. Foram identificadas diversas substâncias nos extratos obtidos, das quais flavonóides, ácidos orgânicos em sua maioria.</p>	<p>Torres <i>et al.</i> (2022b)</p>

Quadro 2 – Diferentes tipos de técnicas de extração aplicadas ao uso da *Pereskia aculeata*

(fim)

Técnica de extração	Parte da planta utilizada	Uso do extrato	Autor(es)
Foi utilizada a combinação sequencial das técnicas ESF+Extração com Líquido expandido a gás (ELG) + ELP + Extração com Água em estado Subcrítico (EAS)	Folhas	Com o objetivo de se extrair proteínas, os autores submeteram as folhas de ora-pro-nobis a um processo de extração sucessivo, combinando diversas técnicas em diferentes condições de operação. Os melhores resultados de recuperação de proteínas e carboidratos foram obtidos quando se utilizou a técnica EAS numa 10,5 MPa e temperatura de 185 °C, além disso, esta técnica nestas mesmas condições foi capaz de extrair uma maior quantidade de compostos fenólicos. Também se observou uma alta atividade antioxidante para extração com água subcrítica nas condições de 10,5 MPa e 150 °C, obtendo um valor de EC ₅₀ = 39,25 µg/mL.	Torres <i>et al.</i> (2022c)

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

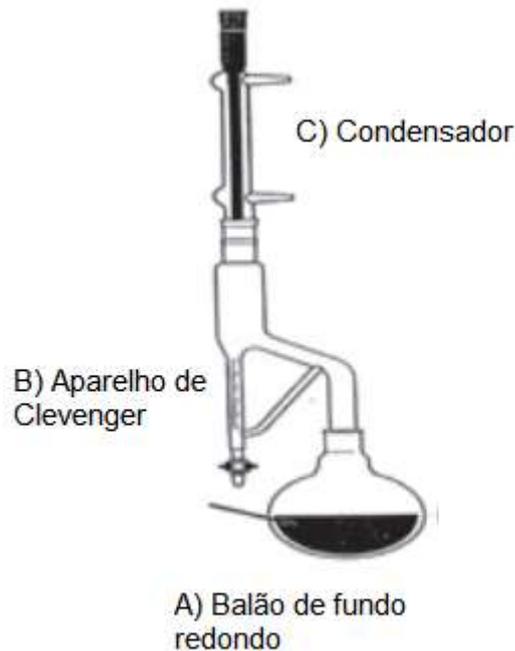
De acordo com o Quadro 2, pode-se observar que apenas Torres *et al.* (2022a; 2022b; 2022c) realizaram estudos focados em técnicas de extração de biocompostos das folhas de *ora-pro-nobis*, havendo ainda uma série de condições experimentais a serem exploradas. Como exemplo, para a técnica de extração com CO₂ supercrítico, estudar a influência da variação da pressão no rendimento e composição dos extratos, uma vez que os trabalhos supracitados foram feitos a pressão constante. Também não foi relatado uso de cossolvente nestes processos de extração, obtendo resultados apenas com o uso do gás carbônico puro. Além disso, não foram encontrados trabalhos utilizando a técnica de ultrassom, largamente difundida na obtenção de extratos vegetais ricos em substâncias bioativas.

Pode-se observar que a obtenção de biocompostos da *Pereskia aculeata Mill.* por diferentes técnicas é promissor, uma vez que as substâncias identificadas pelos autores possuem alto valor para aplicações biotecnológicas e os extratos avaliados apresentaram atividades biológicas relevantes para uso destes em formulações farmacológicas.

3.3.1 Hidrodestilação

A hidrodestilação é uma das formas mais utilizadas para de extração de óleos essenciais. A matéria vegetal é disposta num aparato conhecido como “Aparelho de Clevenger” (Figura 3 B) em contato direto com uma certa quantidade de água. O sistema é aquecido e o vapor de água gerado arrasta as substâncias voláteis presentes na planta, incluindo os óleos vegetais. O vapor então é condensado com o auxílio de um resfriamento indireto com água num condensador (Figura 3 C). O condensado possui duas fases distintas que são separadas com o auxílio de uma válvula (HANDA *et al.*, 2008).

Figura 3 – Aparato utilizado no processo de hidrodestilação



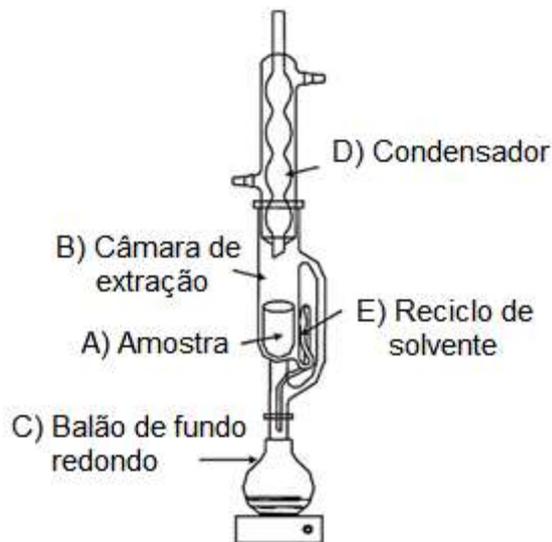
Fonte: Handa *et al.* (2008)

3.3.2 Soxhlet

Essa técnica consiste no contato do vapor de um solvente com a matriz vegetal por um longo período de tempo. O aparelho extrator utilizado é conhecido como Soxhlet (Figura 4). A porção vegetal A, envolta num papel filtro, é alocada na câmara de extração B onde entrará em contato com o vapor do solvente oriundo do frasco de destilação C. Em seguida, a mistura contendo o vapor é então condensada em D e o solvente agora líquido é acumulado até passar pelo sifão onde retorna ao frasco de destilação. O processo então é repetido diversas vezes, concentrando as substâncias extraídas em C. Após esse processo o solvente pode ser eliminado de diversas formas. A rotaevaporação é indicada por trabalhar com temperaturas e pressões relativamente baixas, pois preserva um maior número de compostos voláteis extraídos. Além disso uma das grandes vantagens desta etapa do processo é a

recuperação do solvente utilizado durante a extração (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Figura 4 – Sistema de extração tipo Soxhlet



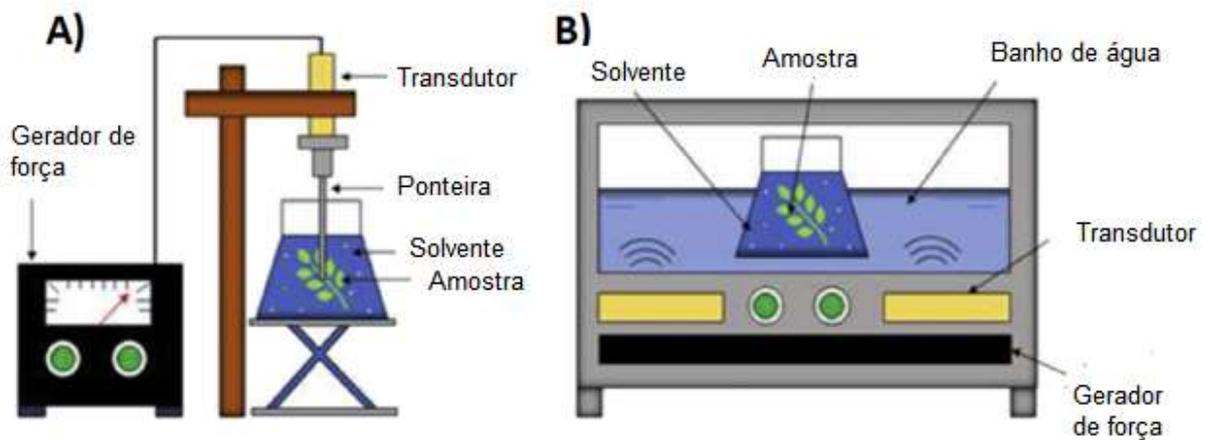
Fonte: Castro, Priego-Capote (2010)

3.3.3 Ultrassom

Conhecida por sua simplicidade e tempos reduzidos de processo, a extração por ultrassom consiste na aplicação de ondas mecânicas (sonoras), num espectro de 20 kHz a 2000 kHz, diretamente sobre a mistura do solvente com a porção vegetal. Esta técnica se destaca por possuir baixo impacto ambiental e alta eficiência na extração de compostos vegetais em tempos de extração relativamente baixos quando comparado a técnicas convencionais de extração (HANDA *et al.*, 2008).

A aplicação das ondas pode ser feita de forma direta por uma sonda/ponteira (Figura 5, A) ou de forma indireta por meio de um banho de água (Figura 5, B).

Figura 5 – Equipamentos para extração por ultrassom de ponteira e banho ultrassônico



Fonte: Ohja *et al.* (2020)

As ondas se propagam pelo solvente criando microbolhas que variam o seu volume constantemente. Ao aumentar e diminuir de tamanho, a força de compressão criada pelas microbolhas gera a cavitação do meio. O colapso das bolhas gera altas tensões de cisalhamento no meio, causando a um aumento na permeabilidade das paredes celulares das plantas, liberando e solubilizando uma maior quantidade de compostos bioativos presentes no interior das células. Entretanto esse método possui algumas desvantagens, pois ao liberar uma grande quantidade de energia, algumas moléculas podem se decompor ou volatilizar pela ação do calor gerado no processo (OHJA *et al.*, 2020; VERNÈS; VIAN; CHEMAT, 2020).

3.3.4 Fluido supercrítico

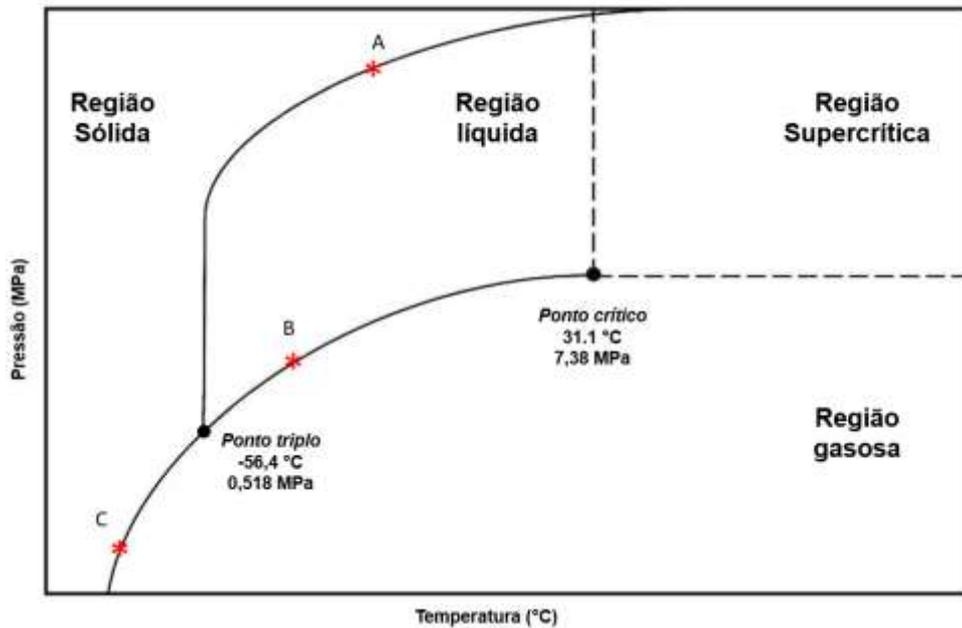
3.3.4.1 Estados da matéria: estado supercrítico

No nosso dia a dia, de maneira intuitiva, é possível relacionar a mudança do estado físico de alguma substância com as variações de temperatura observadas ao longo de um dia. Por exemplo, algumas gorduras como manteiga, óleo de coco ou dendê rapidamente se solidificam com uma queda da temperatura ou derretem caso o clima esquente.

Isso ocorre devido ao ponto de fusão dessas substâncias se encontrar muito próximo da temperatura média ambiente. Sendo assim, percebe-se que as variações de temperatura estão diretamente relacionadas a mudança e/ou permanência de uma substância nos estados sólido, líquido ou gasoso. Entretanto, a temperatura não é o único fator que determina um estado físico de alguma matéria. A pressão é uma variável de igual importância.

Não é comum sentir os efeitos das variações de pressão atmosférica ao nosso redor, pois este fator está relacionado, primordialmente, a altitude onde estamos localizados, tendo como referência a superfície do mar. No entanto, vários fenômenos naturais também são ocasionados devido a uma variação de pressão. Um bom exemplo é todo o ciclo da água que é regulado, dentre outras coisas, pelos gradientes de temperatura e pressão gerados entre massas de nuvens, correntes eólicas, marítimas etc.

Dentre algumas formas, a relação dos estados físicos de uma substância pode ser determinada por meio da relação das variáveis termodinâmicas: pressão (p) e temperatura (T), desconsiderando variações de volume e composição química de uma substância pura. A representação gráfica dessa relação é conhecida como diagrama de fases, no qual é possível identificar em qual estado físico determinada substância se encontra. Na Figura 6 é apresentado o diagrama de fases do gás carbônico.

Figura 6 – Diagrama de fases do CO₂

Fonte: Yu; Niu; Iwashii, (2020)

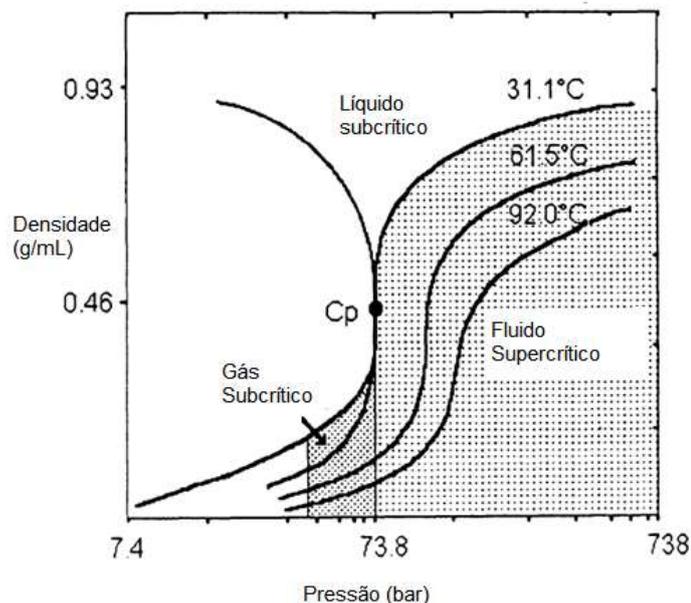
Na Figura 6 é ilustrado um gráfico no qual quatro zonas são delimitadas por retas conhecidas por isotermas. Essas retas representam o equilíbrio de fases correspondente aos estados indicados na figura. Qualquer ponto localizado exatamente acima da isoterma representa as respectivas pressão e temperatura de equilíbrio. O ponto A denota um equilíbrio sólido-líquido (sobre a curva de fusão), o ponto B líquido-gás (sobre a curva de ebulição) e o C sólido-gás (sobre a curva de sublimação), por exemplo. O ponto de interseção das isotermas é conhecido como ponto triplo. Isso significa que nessas condições há um equilíbrio dinâmico entre essas três fases. E da mesma forma, a coexistência de ambas.

À medida que a curva ascende em relação ao aumento da temperatura, a massa específica da substância pura diminui, possibilitado a mudança das fases mais densas (sólida e líquida) para a menos densa (gasosa). Do ponto C ao ponto triplo, é observada uma diminuição da densidade responsável pela mudança do estado sólido para o gasoso (sublimação). Ao seguir em direção além ao ponto B, a massa específica do líquido continua a diminuir até atingir um ponto no qual seu valor se iguala à massa específica do estado gasoso. Esse ponto é conhecido como ponto crítico, representado por uma temperatura crítica ($T_c = 31,1 \text{ °C}$) e uma pressão crítica

($P_c = 7,38 \text{ Mpa}$). Acima desse ponto, na zona indicada na Figura 5 como “Região supercrítica”, a substância adquire um estado próprio, chamado de estado supercrítico. Por possuírem baixa densidade, as substâncias apresentam um comportamento fluido, por esse motivo são chamadas de Fluido Supercrítico (FS) (ATKINS, 2003).

Sendo assim, um fluido em estado supercrítico reúne propriedades dos estados gasoso e líquido. Além de preencher todo o espaço no qual está armazenado, este estado apresenta uma compressibilidade típica do estado gasoso. Sua densidade e poder de solvatação são característicos do estado líquido. A solvatação de uma substância em estado supercrítico é menor do que seu estado líquido, porém superior à do estado gasoso. Isso ocorre devido o poder de solvatação está ligado a densidade do material, e por sua vez, a densidade está relacionada a pressão e a temperatura da substância. De maneira geral, altas pressões tendem a aumentar o poder de solvatação de um fluido a certas temperaturas, já o aumento da temperatura a pressão constante reduz a densidade e em consequência o poder de solvatação. Na Figura 7 demonstra-se o comportamento da densidade gás carbônico em relação a pressão do sistema em diferentes temperaturas (DEAN, 1993).

Figura 7 – Diagrama de fases do gás carbônico em termos de densidade



Fonte: Dean (1993).

Outra característica importante das substâncias no estado supercrítico é a sua baixa viscosidade. Isso potencializa a capacidade que a substância tem em fluir, aumentando a penetrabilidade do fluido em matrizes, mesmo naquelas com baixas permeabilidades. Essa característica é de suma importância para a processos de extração que utilizam fluidos supercríticos como solvente, pois uma maior penetrabilidade promove um aumento nas taxas de transferência de massa, que no geral, são maiores para fluidos no estado supercrítico quando comparadas com seu estado líquido (DEAN, 1993).

Os FS têm sido amplamente estudados pela comunidade científica e suas aplicações são diversas. Uma das mais estudadas é a extração e purificação de substâncias, no qual se uma substância inerte em estado supercrítico é utilizada como fluido extrator. O gás carbônico é um dos mais utilizados nos processos de extração e seu uso será discutido detalhadamente a seguir.

3.3.4.2 Extração com CO₂ em estado supercrítico

A Extração com Fluido em estado Supercrítico (EFS) pode ser entendida pelo processo em que um FS é utilizado para remover, isolar, concentrar ou purificar um analito oriundo de uma matriz sólida, líquida ou semissólida (TAYLOR, 1996). A baixa viscosidade, uma difusividade relativamente alta, e tensão superficial mínima são características que fazem dos FS excelentes solventes. Se difundem facilmente em matrizes sólidas, resultando em menores tempos de extração, além da redução do uso de vidrarias e solventes orgânicos derivados de petróleo. Outra característica relevante dos FS é que sua densidade pode ser alterada com uma variação de pressão e/ou temperatura, isso significa que o poder de solvatação de um fluido supercrítico pode ser estudado, modificado e otimizado (DA SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

A técnica de extração consiste na manipulação da densidade do solvente por meio da variação da temperatura e pressão. Isso permite trabalhar com um fluido extrator com baixa viscosidade e alta difusividade, características que potencializam

a sua penetração na matriz vegetal (ESSIEN; YOUNG; BAROUTIAN, 2020; BRUNO *et al.*, 2019.).

Como pode ser visto na Tabela 1, várias substâncias podem ser utilizadas como fluidos extratores no processo de EFS. No entanto, o gás carbônico é o mais utilizado por possuir vantagens em relação aos demais solventes, tais como:

- a) Evita decomposição dos compostos orgânicos extraídos, tanto por operar em baixas temperaturas (temperatura crítica de 31,1° C) quanto pela ausência de solventes orgânicos quando necessário (HANDA, 2008; ESSIEN; YOUNG; BAROUTIAN, 2020);
- b) Ambientalmente seguro, uma vez que o uso do CO₂ substitui o uso de solventes orgânicos como hexano, éter de petróleo, dentre outros (HANDA, 2008.);
- c) Baixíssima reatividade do CO₂, diminuindo a possibilidade de formação de radicais livres por decomposição dos compostos (HANDA, 2008);
- d) Despressurização e consequente separação do solvente é feita em temperatura e pressões ambientes, reduzindo custos energéticos e financeiros (ESSIEN; YOUNG; BAROUTIAN, 2020);
- e) Alta capacidade de extração de biocompostos vegetais de alto valor agregado, tais como óleos essenciais (ESSIEN; YOUNG; BAROUTIAN, 2020);
- f) Abundância e baixo custo na obtenção do gás carbônico (HANDA *et al.*, 2008).

Tabela 1 – Propriedades críticas de solventes utilizados em processos de extração em meio supercrítico

Solvente	Propriedade crítica			
	Temperatura (°C)	Pressão (atm)	Densidade (g/mL)	Solubilidade (cal ^{-1/2} . cm ^{-3/2})
Dióxido de carbono	31,2	72,9	0,470	7,5
Etano	32,4	48,2	0,200	5,8
Eteno	10,1	50,5	0,200	5,8
Metanol	-34,4	79,9	0,272	8,9
Oxido Nitroso	36,7	71,7	0,460	7,2
n-Butano	-139,9	36,0	0,221	5,2
n-Pentano	-76,5	33,3	0,237	5,1
Hexafluoreto de enxofre	45,8	37,7	0,730	5,5
Água	101,1	217,6	0,322	13,5

Fonte: HERRERO; CIFUENTES; IBAÑEZ (2006)

Devido seu caráter extremamente apolar, o CO₂ supercrítico não é eficiente para a extração de compostos polares. Essa é a principal desvantagem do processo, uma vez que compostos de interesse biotecnológico, como os polifenóis que são polares, não serão eficientemente extraídos devido a fraca força de interação do gás carbônico com essas moléculas (FARÍAS-CAMPOMANES; ROSTAGNO; MEIRELES, 2013).

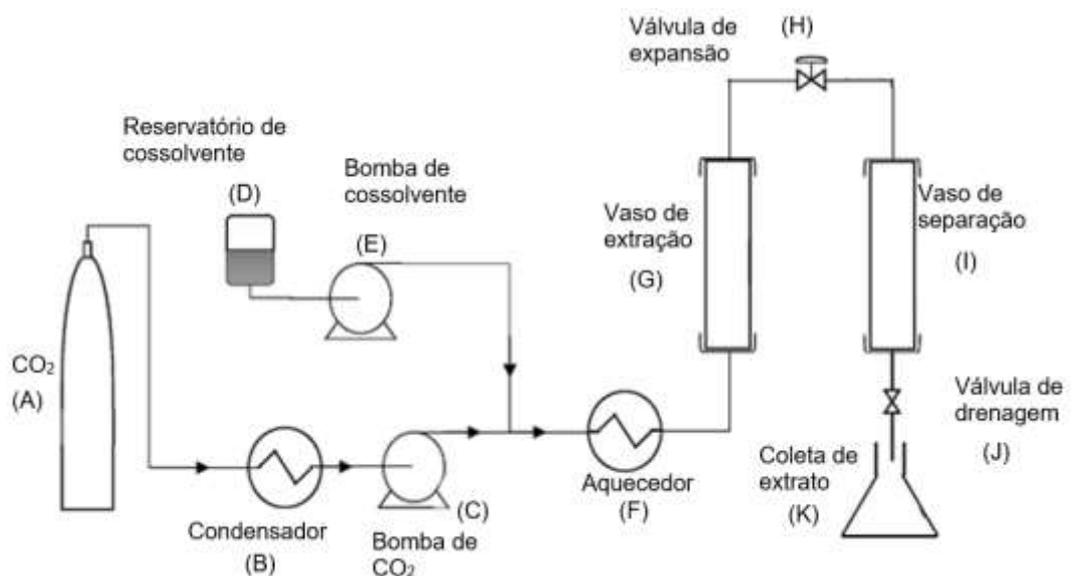
A eficiência da extração de compostos polares pode ser aumentada ao se adicionar um cossolvente de caráter polar junto ao processo de EFS. A presença do cossolvente no sistema provoca um aumento nas interações intermoleculares, principalmente ligações de hidrogênio, entre o cossolvente e o analito, possibilitando a extração de biomoléculas como flavonoides e compostos fenólicos que são moderadamente ou completamente insolúveis em CO₂, aumentando assim a eficiência dos processos de EFS. Os cossolventes mais utilizados são o etanol, metanol e água (TÝSKIEWICZ; KONKOL; RÓJ, 2018).

Rawson *et al.* (2012) apontam o etanol como o cossolvente ideal para EFS-CO₂ devido a sua baixíssima toxicidade, baixo custo e pelo fato de ser obtido de fontes renováveis. É indicado para extração de moléculas altamente e moderadamente polares, apresentando boa eficiência para remoção de ácidos fenólicos e flavonoides.

Além disso, sua remoção no fim do processo pode ser feita facilmente com o uso de técnicas simples como destilação (RAWSON *et al.*, 2012).

De maneira geral, um processo de extração de biocompostos com o uso CO_2 em estado supercrítico ocorre em batelada. Os equipamentos mínimos necessários para sua realização são bombas ou compressores, vasos de extração e separação, trocadores de calor e válvula de expansão (PETERSEN, 2017). Na Figura 8 ilustra-se um processo de EFS- CO_2 (Extração com CO_2 em estado Supercrítico) com utilização de cossolvente. O gás carbônico presente no cilindro A é condensado em (B) e pressurizado em (C) na entrada do processo, para só então ser misturado com o cossolvente oriundo do reservatório (D). A mistura CO_2 -cossolvente é então encaminhada para um aquecedor (F), para que se atinja a temperatura de operação desejada. A matriz vegetal está alocada no vaso de extração (G), local onde a mistura se difunde na planta, realizando a extração dos compostos bioativos. Ao deixar o vaso, a mistura contendo o extrato é encaminhada para o vaso de separação (I), no qual o sistema é despressurizado. O CO_2 , que estava em estado supercrítico, ao passar pela redução de pressão se converte em gás, se despreendendo da mistura de cossolvente e extrato que é coletada em seguida (K) na saída do processo (ESSIEN, YOUNG e BAROUTIAN, 2020).

Figura 8 – Processo de extração utilizando o CO_2 como fluido supercrítico



Fonte: Essie; Young; Baroutian (2020)

A eficiência e o rendimento de um processo de EFS-CO₂ são influenciados fortemente pela pressão do sistema, uma vez que, em determinada temperatura, a força de solvatação do FS aumenta com o aumento da pressão. No entanto, outros fatores também apresentam influência na capacidade de extração, tais como temperatura, presença de cossolvente, tempo de extração, vazão de solvente tamanho e porosidade das partículas, solubilidade dos compostos de interesse e suas interações com a matriz vegetal (TAYLOR, 1996).

3.3.4.3 Curvas de extração

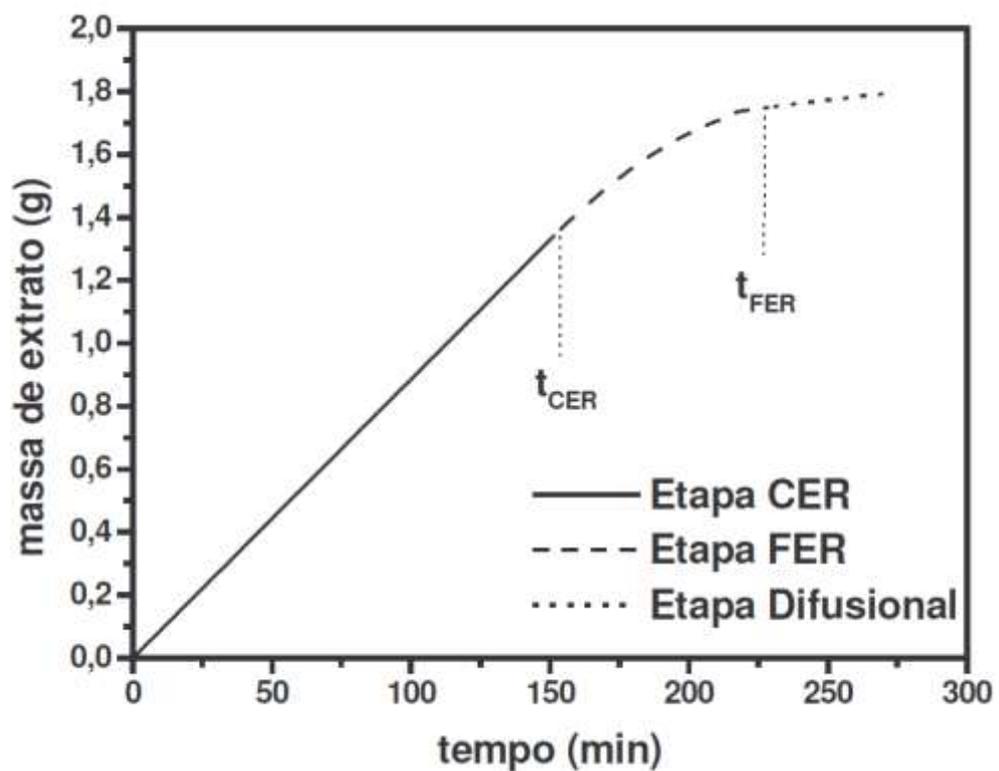
De acordo com Sovová (2004), a forma mais simples de se caracterizar um processo de extração de compostos naturais de origem vegetal por EFS é pela da curva de extração do processo, no qual é construída plotando a massa de extrato acumulada ou a quantidade de solvente que passou pelo extrator versus o tempo de extração. A análise desta curva cinética mostra que o processo de extração está dividido em três etapas controladas por diferentes mecanismos de transferência de massa, conforme mostrado na Figura 9. As três etapas do processo são divididas em (ESSIEN, YOUNG e BAROUTIAN, 2020; (MOUAHID; DUFOUR; BADENS, 2017); MARTÍNEZ, 2005.):

- a) Etapa com taxa constante de extração (*Constant extraction rate* - CER):
Ocorre a extração do “soluto de fácil acesso”, ou seja, do soluto presente na superfície externa da partícula. Nessa etapa o mecanismo de transferência de massa se dá por convecção e o processo de extração é limitado pelo equilíbrio do solvente de fácil acesso com o soluto;
- b) Etapa com taxa decrescente de extração (*Falling extraction rate* - FER):
À medida que o tempo passa, o solvente já removeu boa parte do soluto de fácil acesso, ao ponto que, os poros da superfície da partícula fiquem disponíveis para a penetração do solvente em camadas mais internas. Nesta parte, ocorrem simultaneamente os mecanismos de

transferência de massa por convecção (superfície da partícula) e difusão (interior da partícula);

- c) Etapa difusional (*Low rate extraction/Difusion-Controlled* - LER/DC): Após a remoção de quase todo soluto extraível, o processo então é controlado pelas forças difusivas de transferência de massa entre o soluto no interior da partícula e o solvente.

Figura 9 – Curva de extração com FS descrita pelo método de Sovová



Fonte: Martínez (2005)

Um aumento na vazão de solvente do sistema influencia diretamente a extração do soluto de fácil acesso, uma vez que a resistência à transferência de massa externa diminui com o aumento da vazão. No entanto, valores muito altos de vazão implicam em pouco tempo de contato do soluto com a superfície das partículas, causando assim uma redução no rendimento do processo de EFS (EKINCI; GÜRÜ, 2019).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os passos necessários para obtenção e caracterização dos extratos das folhas de *Pereskia aculeata M.*, bem como a análise de sua atividade antioxidante. A partir dos dados obtidos, foi possível determinar a variação do rendimento global dos processos de extração, e como as variáveis temperatura, pressão e o tipo de solvente utilizado influenciaram tanto no rendimento quanto na composição química dos extratos e nas atividades antioxidantes.

Para as técnicas de extração a baixa pressão: Soxhlet e ultrassom, foram utilizados dois solventes de polaridades distintas, o hexano (99% Neon) e o etanol (99,8% Neon). Já para técnica de hidrodestilação, o solvente utilizado foi a água deionizada. Para extração em alta pressão foi utilizado gás carbônico puro (99,99% White Martins, Florianópolis – SC.) em estado supercrítico como solvente e o etanol como cossolvente.

As etapas de preparo do material, extrações de baixa pressão, CO₂ supercrítico e atividade antioxidante foram realizadas no Laboratório de Controle de Processos e Polimerização – LCP, a caracterização do leito de partículas foi feita no Laboratório de Tecnologia Supercrítica – LATESC e as análises de cromatografia gasosa foram realizadas na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, todos pertencentes a Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

4.1 Preparo e caracterização do material

As folhas secas de ora-pro-nobis foram gentilmente cedidas pela empresa Charoma. Foram recebidas em sacos de polipropileno e armazenadas em freezer do tipo doméstico a -18 °C. Após o recebimento foi feita uma catação manual para separar talos, galhos e espinhos das folhas.

As folhas secas separadas foram trituradas com o auxílio de um moedor de café. Em seguida, foi peneirado em peneiras padronizadas de 35 *mesh* (500 µm), 45 *mesh* (355 µm), 60 *mesh* (250 µm) e 80 *mesh* (180 µm).

Para caracterização do leito de partículas, a densidade real (ρ_R) da matriz vegetal seca foi medida com a técnica de Picnometria de gás hélio. Nesta técnica, uma cápsula cilíndrica de 10 cm³ de volume foi preenchida completamente com as folhas de *Pereskia aculeata* M. e em seguida é pesada e encaminhada para equipamento de picnometria, no qual o volume da cápsula é completado com gás hélio. O equipamento mede a quantidade necessária de gás para preencher todos os espaços vazios na cápsula e nos poros na superfície das partículas. Sendo assim é possível aferir a densidade real e a porosidade do leito de partículas com grande precisão, reprodutibilidade e facilidade de operação.

A densidade aparente da amostra (ρ_A) foi calculada dividindo a massa de amostra vegetal seca (m_a) em gramas, necessária para preencher completamente uma cápsula de 10 cm³ de volume, pelo volume da cápsula (v_c) de acordo com a seguinte equação:

$$\rho_A \left(\frac{g}{cm^3} \right) = \frac{m_a (g)}{v_c (cm^3)} \quad (1)$$

A porosidade total do leito de partículas (ε) calculada por meio da relação entre a densidade real e aparente de acordo com a Equação 2 mostrada a seguir:

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_A}{\rho_R} \quad (2)$$

4.2 Extração por Hidrodestilação

Para obtenção do óleo essencial da ora-pro-nobis, 30 g de folhas secas, foram colocadas em um balão de fundo redondo contendo 1000 mL de água destilada. O aparelho de Clevenger de 100 mL foi conectado a um condensador na sua parte superior e ao balão na inferior, conforme mostrado na Figura 9. A hidrodestilação ocorreu por 5h, conforme com Santos *et al.* (2004). O óleo essencial foi recolhido num frasco seco, limpo e previamente pesado. Após a coleta, a massa de óleo essencial obtida foi aferida e armazenada em freezer a -18 °C para análises futuras. O processo foi feito em triplicata.

Figura 10 – Fotografia do aparato utilizado para extração por hidrodestilação



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

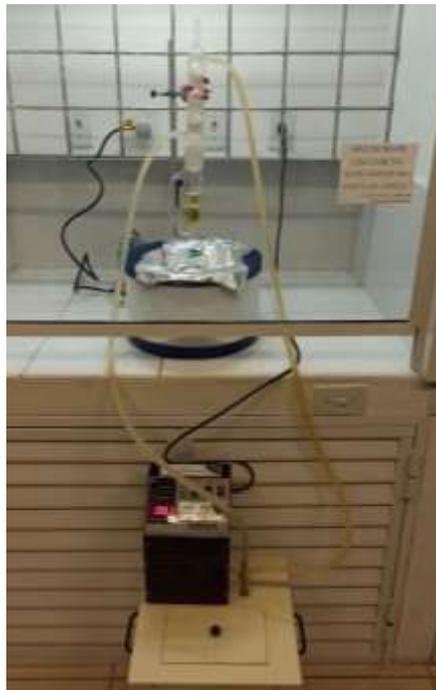
4.3 Extração por Soxhlet

Para essa técnica, foram utilizados solventes de polaridades opostas, com o objetivo de se observar alguma seletividade das substâncias presentes na amostra. O solvente apolar utilizado foi o hexano e o polar etanol. Todas as extrações aconteceram nas mesmas condições, seguindo a metodologia adaptada de Zhang *et al.* (2020), tendo apenas o solvente como variável.

Foram adicionadas 3 g de amostra vegetal seca em uma cápsula de papel filtro, que foi em seguida lacrada e depositada no interior do extrator Soxhlet. Após isso, adicionou-se 150 mL de solvente em um balão de fundo redondo de 250 mL seco e

previamente pesado. O extrator foi conectado a um condensador e o balão conforme observado na Figura 11. O sistema foi aquecido com o auxílio de uma manta térmica e a extração ocorreu por um período de 5 h. Esse experimento foi realizado em triplicata.

Figura 11 – Fotografia do aparato utilizado na extração por Soxhlet



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Após a extração, o solvente foi rotaveaporado e a massa do balão foi aferida. A partir disso, foi obtida a massa do extrato e calculado o rendimento do processo para ambos os solventes.

4.4 Extração por Ultrassom

Conforme feito no item 4.3, nessa técnica foram utilizados solventes de polaridades diferentes. O etanol e o hexano foram os solventes utilizados. Foram adicionados 50 mL de solvente em um béquer de 100 mL e em seguida 1 g de amostra seca. A técnica de extração por ultrassom ocorreu utilizando um sonicador de microprobeira 421-A Sonics Vibracell de 20 kHz \pm 50 Hz de potência, numa amplitude

de 40% e pulso de 20 s ligados e 10 desligados, num tempo total de 10 min. O béquer foi alocado em um banho de gelo para se evitar a evaporação do solvente uma vez que o processo de cavitação das bolhas de ar libera calor para o meio. Após a extração, o sistema foi filtrado a vácuo e o extrato recolhido em um frasco âmbar no qual foi encaminhado para a estufa para secagem a 40 °C. Depois de evaporado o solvente, o frasco foi pesado e armazenado em geladeira convencional a – 18 °C para posteriores análises. Na Figura 12 é mostrado o processo de extração por ultrassom.

Figura 12 – Fotografia do aparato utilizado para extração por ultrassom



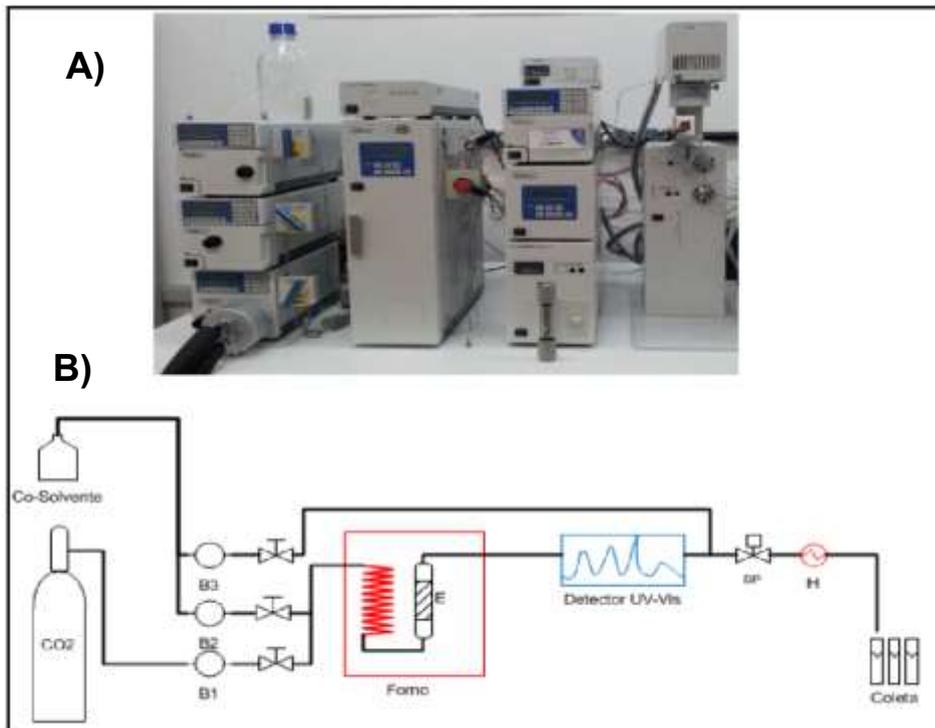
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

4.5 Extração com CO₂ em estado supercrítico

Para esta técnica, o equipamento de extração utilizado foi o HPLC-SC da Jasco Inc. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle de processos e Polimerização – LCP, da UFSC. A unidade de extração HPLC-SC está representada de acordo com Figura 13. Em A é mostrado o equipamento localizado no LCP e em B é representada a unidade de extração supercrítica, composta pelos reservatórios de CO₂ e cossolvente, três bombas de alta pressão, sendo B1 uma para o gás carbônico,

B2 é a bomba de cossolvente e B3 a bomba de eluente. O material a ser extraído é alocado na cápsula de extração E de volume interno de 0,010 L, que é inserida no forno do equipamento. Para evitar que algum particulado danifique as linhas de extrações a cápsula contém em sua saída um filtro de 10 μ m. Além disso, equipamento possui um detector de espectro UV-VIS. O equipamento possui uma interface de comunicação LC-net II (Jasco Inc.) com um computador, no qual é operado por meio do software ChromNAV,

Figura 13 – Unidade de extração supercrítica



Fonte: Arauco (2013) (Adaptado).

Os ensaios de extração foram realizados sob diferentes condições experimentais de pressão (P), temperatura (T) e quantidade de cossolvente utilizada no processo (Cs), sendo possível estudar o rendimento global de extração em diferentes condições. Também foram determinadas as curvas de extração e a composição do extrato de maior rendimento global.

4.5.1 Rendimento global da ESF-CO₂

Inicialmente, foram realizados estudos preliminares com objetivo de se determinar o rendimento global da extração sem a presença de cossolvente. Para isso, três condições diferentes de temperatura e pressão foram avaliadas de acordo com a Tabela 2. Esses estudos preliminares foram feitos em triplicata, numa vazão de CO₂ de 3 mL/min num tempo total de extração de 120 min.

Tabela 2 – Condições experimentais de extração utilizando CO₂ supercrítico

Fatores	
Pressão (bar)	Temperatura (°C)
110	40
140	50
170	60

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Tomando os resultados obtidos nos testes anteriores, com objetivo de estudar a influência da pressão, temperatura e presença do etanol como cossolvente no rendimento do processo de extração, foi realizado um planejamento experimental fatorial completo do tipo DCCR (Delineamento composto central rotacional). Através deste planejamento experimental é possível observar de forma estatisticamente apurada como se dão as interações dos fatores analisados experimentalmente.

Esse planejamento consiste na combinação de três fatores (n =3) com níveis e quatro repetições do ponto central, contabilizando um total de 18 experimentos. Na Tabela 3 estão descritos os fatores e níveis estudados (- α , -1, 0, +1, + α).

O valor de α foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\alpha = 2^{\frac{n}{4}} \quad (1)$$

$$\alpha = 2^{\frac{3}{4}} = 1,68 \quad (2)$$

Tabela 3 – Condições experimentais utilizadas no planejamento DCCR para três fatores

Fatores	Níveis				
	- α	- 1	0	+1	+ α
p (bar)	80	110	140	170	200
T (°C)	34 ⁽¹⁾	40	50	60	66
Cs (% massa de cossolvente/massa total de solvente)	0	5	10	15	20

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

(1) A temperatura mínima de 34 °C foi adotada para garantir a operação do processo com o CO₂ em estado supercrítico.

Na Tabela 4 está exposta a matriz de variáveis utilizada nos experimentos. A abreviação “cod” vem de codificado, as que foram calculadas.

Tabela 4 – Variáveis codificadas e reais utilizadas no planejamento experimental DCCR

Ensaio	p _{cod}	T _{cod}	Cs _{cod}	p _{real}	T _{real}	Cs _{real}
1	-1	-1	-1	110	40	5
2	1	-1	-1	170	40	5
3	-1	1	-1	110	60	5
4	1	1	-1	170	60	5
5	-1	-1	1	110	40	15
6	1	-1	1	170	40	15
7	-1	1	1	110	60	15
8	1	1	1	170	60	15
9	-1,68	0	0	80	50	10
10	1,68	0	0	200	50	10
11	0	-1,68	0	140	34	10
12	0	1,68	0	140	66	10
13	0	0	-1,68	140	50	0
14	0	0	1,68	140	50	20
15	0	0	0	140	50	10
16	0	0	0	140	50	10
17	0	0	0	140	50	10
18	0	0	0	140	50	10

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Foram utilizadas em média 3,730 g de folhas secas de *Pereskia aculeata M.* e uma vazão de 3mL/min e um tempo de extração de 120 min. No decorrer da extração,

os extratos foram recolhidos em frascos âmbar e posteriormente encaminhados para secagem em estufa a 40 °C, com tempo de duração variando para cada amostra. Após completa evaporação do solvente (com exceção da amostra com 0% de cossolvente que não foi levada a estufa) as amostras foram pesadas e armazenadas sob refrigeração para análises posteriores.

Todo o planejamento experimental fatorial completo DCCR, quanto demais análises estatísticas tais como ANOVA e teste de Tukey com 90% de confiança foram realizadas utilizando a software Statistica 13.0.

Para melhor compreensão das relações das variáveis estudadas neste trabalho, foram realizadas extrações adicionais com o objetivo de se construir gráficos para auxiliarem na avaliação da relação entre a temperatura e pressão do processo de extração das folhas de *P. aculeata Mill.* As condições estudadas estão listadas na Tabela 5 a seguir. Os pontos extras foram feitos a uma concentração de 5% de cossolvente em duplicata, aproveitando os pontos já realizados no planejamento experimental fatorial DCCR nessa mesma concentração de cossolvente.

Tabela 5 – Condições de pressão e temperatura utilizadas nos ensaios adicionais

Fatores a 5% de cossolvente	
Pressão (bar)	Temperatura (°C)
110	40
140	40
170	40
110	50
140	50
170	50
110	60
140	60
170	60

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

4.5.2 Curvas de extração

Para avaliar os efeitos cinéticos do processo de extração, as curvas de extração foram construídas com os dados de massa extraída acumulada ao longo do tempo. Para isso, os experimentos foram conduzidos nas condições de maior rendimento observadas no planejamento DCCR (140 bar, 50°C e 20% Cs), uma vazão de 3 mL/min e num tempo total de 180 min. As massas de extrato foram coletadas em tubos de ensaio previamente identificados e secos, distribuídos em 20 pontos durante o processo de extração. Após a coleta, os frascos foram encaminhados para estufa a 40 °C para evaporação do cossolvente, tendo por fim sua massa do extrato aferida.

As curvas de extração foram feitas com o auxílio do software Excel.

4.6 Análise da composição dos extratos

Tanto os extratos de *Pereskia aculeata* M. obtidos no planejamento experimental da extração com CO₂ supercrítico, quanto os oriundos dos processos de baixa pressão foram caracterizados com a técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massa (GC-MS). Esses ensaios foram realizados na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

O equipamento de GC-MS utilizado nas caracterizações é do tipo Aligent GC 7890A acoplado a um detector MS Aligent 5975C e a coluna capilar utilizada Aligent HP5M5 (30m de comprimento e espessura 25 µm) composta de sílica fundida está conectada a um detector que opera no modo EI a 70 eV.

A fim de se realizar uma identificação de substâncias mais apurada, duas metodologias de análise foram feitas, sob diferentes condições. A primeira, comumente utilizada para óleos essenciais, é descrita por Adams (2017). A temperatura do forno utilizada subiu gradualmente a 40°C durante 2 min, depois disso numa taxa de 3°C/min a temperatura subiu até 145 °C e em seguida, numa taxa de 10 °C/min aqueceu até atingir a temperatura de 250 °C durante 10 min. A vazão do gás de arraste (Hélio) foi de 1 mL/min. Ambas as temperaturas de injeção e interface utilizadas foram de 250 °C, com uma relação de divisão de 1:50, em modo split.

A outra metodologia foi feita de acordo com Torres *et al.* (2022a), utilizada para identificar compostos voláteis de extratos de *Pereskia aculeata Mill.* Para isso, foi empregada uma vazão de gás de arraste (He) de 0,8 mL/min, a temperatura do forno foi programada para ser iniciada aos 60 °C e aquecido numa taxa de 10 °C/min até atingir a temperatura de 325 °C, no qual foi mantida por 10 minutos. A injeção foi feita em modo split numa relação de divisão de 1:10 e fluxo de 8,4 mL/min em uma temperatura de 250 °C.

Para ambas as metodologias, o volume de amostra injetado foi de 1 µL feitas com o uso de um amostrador Aligent GC Sampler 80. Todos os compostos foram identificados por meio da comparação dos espectros de massa obtidos com os fornecidos pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST, 2011).

4.7 Cálculo do Rendimento global de extração

O rendimento global (R%) dos processos de extração por hidrodestilação, sohlet, ultrassom e com CO₂ supercrítico foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$R_{\%} = \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{folhas}}} \cdot 100\% \quad (3)$$

No qual m_{extrato} é a massa de extrato seco ou do óleo essencial e m_{folhas} a massa de folhas secas de ora-pro-nobis utilizadas para cada processo de extração. No caso da EFS, a m_{folhas} é a massa necessária para preencher completamente a cápsula de extração.

4.5 Atividade antioxidante

Para o cálculo da atividade antioxidante, foi utilizada a técnica da redução do radical DPPH, juntamente com os extratos que apresentaram maior rendimento em suas respectivas técnicas de extração. A metodologia foi adotada conforme Lima, Ferreira e Block (2019) e Mensor *et al.* (2001) e consistiu reagir uma solução etanólica de DPPH a 0,3 mM com os extratos de *Pereskia aculeata M.* nas concentrações de

500, 250, 125, 50 10 e 5 µg/mL durante 30 min ao abrigo da luz. Após esse tempo, as absorvâncias das amostras foram lidas em um espectrofotômetro HITACHI U-1900.

Em posse das leituras das absorvâncias (*abs*), foi calculada a porcentagem de inibição de acordo com a seguinte equação:

$$AA(\%) = 100 - \left[\frac{Abs_{amostra} - Abs_{branco}}{Abs_{controle}} \right] \quad (4)$$

A partir dos dados calculados acima, foi traçada uma reta AA(%) versus concentração com o objetivo de se calcular EC₅₀ de cada amostra. Esse valor representa a concentração de extrato necessária para reagir com 50% do radical DPPH, sendo assim, valores de EC₅₀ mais baixos representam maiores atividades antioxidantes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesse capítulo serão expostos e discutidos os resultados obtidos nos processos de caracterização do leito de partículas, rendimentos globais de extração a baixa e alta pressão, identificação de substâncias e atividade antioxidante dos extratos. Serão discutidas as como e variáveis tipo de solvente, temperatura e pressão influenciaram no rendimento global dos processos de extração estudados, na composição e atividade antioxidante dos extratos vegetais de *Pereskia aculeata M.* Os rendimentos das técnicas de baixa e alta pressão foram comparados entre si, além disso foram avaliadas possíveis aplicações dos extratos obtidos.

5.1 Caracterização do leito de partículas

O estudo da caracterização do leito de partículas auxilia na compreensão dos fenômenos de transferência de massa e na cinética dos processos de extração. Com o uso da técnica de picnometria de gás hélio foi possível se determinar as densidades real (ρ_r) e aparente (ρ_a) e a porosidade (ε) do leito de partículas composto por folhas de *Pereskia aculeata Miller*. Além disso, o diâmetro médio das partículas foi determinado por meio de análise granulométrica.

Os resultados estão dispostos na Tabela 6 a seguir:

Tabela 6 – Parâmetros do leito fixo

Parâmetros			
Diâmetro médio	Densidade real	Densidade aparente	Porosidade
500 μm	$\rho_a = 1,4370 \text{ g/cm}^3$	$\rho_a = 0,2587 \text{ g/cm}^3$	$\varepsilon = 0,8199$

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

O diâmetro de partícula definido para esse trabalho foi o correspondente a fração de folhas de ora-pro-nobis retidas entre as peneiras de 35 e 45 *mesh*. Partículas com menor diâmetro favorecem o aumento do rendimento dos processos de extração pois quanto menor for o diâmetro maior será a área superficial disponível para a transferência de massa. No entanto, foi observado que a fração compreendida entre

45 *mesh* (355 μm) e 60 *mesh* (255 μm) apresentou alto grau de compactação no interior da cápsula de extração supercrítica, causando um grande aumento gradativo na pressão do sistema, impedindo que o fluxo de CO_2 e etanol passe continuamente pelo leito de partículas.

A porosidade do leito de partículas corresponde a quantidade de espaços vazios presentes no leito de partículas, isso significa dizer que há 81,99% do volume do leito é espaço vazio onde o CO_2 em estado supercrítico flui no decorrer do processo de extração. Esses parâmetros foram considerados constantes e igualmente válidos para todas técnicas de extração estudadas.

Não se fez necessária análise de umidade pois, as amostras foram encaminhadas a estufa, no qual ocorreu a secagem do material antes da extração.

5.2 Extração por Hidrodestilação

A extração do óleo essencial das folhas de *Pereskia aculeatta Mill.* foi realizada utilizando a técnica tradicional de hidrodestilação em triplicada e apresentou um rendimento em base seca de 0,024 % ($\pm 0,0002$). É sabido que, principalmente se tratando de folhas, os rendimentos de óleos essenciais podem ser bem baixos para várias espécies vegetais. No entanto, os valores obtidos estão dentro dos típicos para essa espécie, que compreende de 0,02 a 0,03% de rendimento (SOUZA *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2016)

As substâncias e as respectivas áreas relativas (em %) identificadas por GC-MS estão dispostas na Tabela 7 de acordo com a metodologia proposta por Torres *et al.* (2022a), e na Tabela 8 de acordo com Adams (2017).

Tabela 7 – Compostos voláteis identificados no óleo essencial de *Pereskia aculeata* Miller obtido por hidrodestilação de acordo com a metodologia proposta por Torres *et al.* (2022) via GC-MS

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
31,8626	31,8626	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	Linolenato de etila
16,5256	20,2214	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Palmitato de etila
15,8651	17,2508	Hexadecanoic acid, methyl ester	Palmitato de metila
15,0648	7,7178	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	Fitona
17,6625	6,2003	Phytol	Fitol
6,5604	3,2422	2,3-Dioxabicyclo[2.2.2]oct-5-ene	Ascaridol
17,491	2,0934	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	Ácido alfa-linolênico
12,4227	1,8543	Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester	alfa-metilbutil isobutirato
15,3379	1,2226	Phthalic acid, butyl 2-methylpent-3-yl ester	Ácido ftálico, butil 2-metilpent-3-il éster
12,3084	1,1236	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1a.alpha.,4a.alpha.,7.beta.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	Espatulenol
16,3351	0,8552	Ethyl 9-hexadecenoate	Etil-9-hexadecanoato
15,0077	0,5586	Bicyclo[3.1.1]heptane-2-carboxaldehyde, 6,6-dimethyl-	Mytrenal
14,525	0,4627	Tetradecanoic acid, ethyl ester	Miristato de etila
18,3548	0,3686	Octadecanoic acid, ethyl ester	Estereato de etila
11,0826	0,2537	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	Benzeno-1-(1,5-dimetil-4-hexenil)-4-metil

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Tabela 8 – Compostos voláteis identificados no óleo essencial de *Pereskia aculeata* Miller obtido por hidrodestilação de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
11,2431	0,521	Bicyclo[4.3.0]non-3-ene, 3,4-dimethyl-7-exo-methylene-	Biciclo [4.3.0] non-3-eno, 3,4-dimetil-7-exo-metileno
11,1249	0,5413	1,3-Isobenzofurandione, 3a,4,7,7a-tetrahydro-, trans-1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1a-	1,3-isobenzofurandiona
28,3565	0,1906	(1a.alpha.,4a.alpha.,7.beta.,7a.beta.,7b.alpha.)-	Espatulanol

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Foram identificados no total 18 compostos, sendo primeiramente 15, de acordo com Torres (2021) e 3 de acordo com Adam (2017). Os compostos identificados que apresentaram maior área relativa foram aqueles derivados de ácidos orgânicos, o Linonelato de etila (31,86%), Palmitato de etila (20,22%) e Palmitato de metila (17,25%), fitona (7,72%) e fitol (6,20%).

Hosher (2019) identificou um total de 20 substâncias no óleo essencial de ora-pro-nobis extraído por hidrodestilação. Os compostos majoritários encontrados foram acorona (20,2%) isotorquato (19,87%), fitol (18,75%), 2-hexil-(E)-cinnamaldeído (13,5%), (Z)-3-hexenilsalicilato (11,83%), estearato de metila (9,35%) e ácido linoleico (8,25%).

Conforme destacado por Simões *et al.* (2010), fatores como condições de cultivo e colheita, volume de chuvas, composição do solo, intensidade de luz, dentre outros, podem afetar a composição dos óleos essenciais. Além disso, de acordo com Hoscher (2019) a composição também é afetada pelo processo de secagem na qual as folhas foram submetidas antes do processo de hidrodestilação.

5.3 Técnicas de extração sob baixa pressão

Os rendimentos dos processos de extração sob baixa pressão utilizando solventes de polaridades distintas foram calculados e as médias encontradas estão expostas na Tabela 9:

Tabela 9 – Rendimento mássico global das extrações sob baixa pressão das folhas de *Pereskia aculeata* Mill.

Técnica de extração	Solvente	Rendimento (%) ⁽¹⁾	IP ⁽²⁾
Soxhlet	Etanol	9,71 ^a ± 0,32	5,2
Soxhlet	Hexano	1,58 ^b ± 0,47	0
Ultrassom	Etanol	3,01 ^c ± 0,18	5,2
Ultrassom	Hexano	2,47 ^c ± 0,20	0

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

⁽¹⁾ Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras iguais mostram que não há diferença significativa das médias para o teste de Tukey ($p > 0,05$).

⁽²⁾ Índice de polaridade do solvente.

Avaliando o uso do etanol como solvente, é possível observar na Tabela 9 que a técnica de soxhlet apresentou um rendimento global médio estatisticamente diferente e maior do que o encontrado com o método de ultrassom, 9,71% e 3,01% respectivamente. Isso pode ser explicado devido as condições na qual o soxhlet opera, pois essa técnica trabalha na temperatura de ebulição do solvente, levando a redução da viscosidade e tensão superficial do sistema quando comparada com temperaturas mais baixas, típicas utilizadas na extração por ultrassom, propiciando condições mais favoráveis para que o solvente adentre o interior da matriz vegetal e realize uma maior solubilização das substâncias. Além disso, o longo tempo de extração e o reciclo de solvente também são fatores que contribuem para maiores rendimentos (MEZZOMO *et al.*, 2010; MARKOM *et al.*, 2007).

Para o uso do hexano, solvente de menor polaridade, foi observado um maior rendimento global médio de extração estatisticamente diferente para a técnica de ultrassom (2,47%) quando comparada com o soxhlet (1,58%). Essa diferença pode ser justificada pelo fato do fenômeno de cavitação, provocado pela formação das microbolhas ocasionadas pelo ultrassom, aumenta a polaridade do solvente empregado durante o processo de extração. Além disso, há um aumento da permeabilidade do solvente na parede celular da matriz vegetal acarretado pelo afastamento e aproximação repetida das moléculas do sistema ocasionada pelas ondas sonoras durante o processo de extração. Sendo assim, o solvente com baixa

polaridade favoreceu a solubilização de substâncias para a técnica de extração por ultrassom (LAURENTINO, 2020), não apresentando diferença estatística em relação ao uso do etanol.

Para a técnica de ultrassom, não houve diferença estatística significativa entre os rendimentos obtidos ao se utilizar o etanol e o hexano como solventes. O aumento da polaridade do sistema que o processo de ultrassom promove aumenta a capacidade de solubilização do hexano, e uma vez que o processo atua em baixas temperaturas, há um aumento na densidade dos solventes e consequente diminuição do poder de solvatação, fatores que podem contribuir para valores de rendimentos equiparáveis entre si.

Nota-se que o rendimento dos processos é favorecido quando a polaridade do solvente é maior ou aumentada pelo fenômeno da cavitação (para a técnica de ultrassom). Torres *et al.* (2022a), observaram maiores rendimentos em solventes de maior polaridade, no qual obtiveram um valor cerca de três vezes maior, quando o solvente utilizado na extração soxhlet foi o etanol (15,08%) em relação ao hexano (4,66%). Tais resultados apontam para uma maior quantidade de substâncias polares presentes nas folhas de *Pereskia aculeata* Mill.

Os valores de rendimento para o processo Soxhlet encontrados por Torres *et al.* (2022a) foram superiores aos obtidos neste trabalho, pois o tempo de extração utilizado foi de 6 h e razão de massa de amostra/solvente 1:30. Neste utilizou-se um tempo de extração foi de 5 h e uma razão de 1:50. Além disso, as matérias-primas foram cultivadas, obtidas e processadas em condições diferentes. De acordo com Rodrigues *et al.* (2011) fatores como métodos de cultivo, condições meteorológicas, práticas pós-colheita e processamento apresentam influencia tanto na composição quanto no rendimento de extratos vegetais.

Os compostos voláteis identificados estão dispostos nas Tabelas 10, 11, 12, 13 e 14. Tanto para as técnicas de baixa pressão quanto para a extração com CO₂ supercrítico (a ser explorado no item 5.4.4) foi observado uma baixa detecção de substâncias, sendo testada duas metodologias para a técnica de GC-MS. A baixa detecção de substâncias está provavelmente relacionada a presença de ceras e compostos de alto peso molecular nos extratos, por possuírem tempos de retenção molecular maiores do que os estudados nas técnicas citadas anteriormente. Utilizando

propano e CO₂ em estado supercrítico como técnica de extração, Corrêa (2016) observou o mesmo fenômeno ao analisar os extratos da inflorescência de banana (*Musa paradisiaca*).

Para a técnica de soxhlet, somente os extratos em hexano apresentaram uma quantidade detectável de substâncias, num total de 14 substâncias, sendo os compostos com maior área relativa 3-metil-2-ciclopentanona (11,35%), 2,3-Dimetil-1,4-pentadieno (3,60%) e 3-metilpenta-1,4-dieno-3-ol (1,54%); ascaridol (3,63%), palmitato de metila (2,90%) e palmitato de etila (1,42%). Não foram encontrados compostos detectáveis para as técnicas de soxhlet utilizando etanol como solvente por GC-MS. Esse comportamento também foi observado por Torres *et al.* (2021) no qual 11 substâncias foram identificadas apenas para as extrações realizadas utilizando solventes de baixa polaridade (CO₂ e hexano). Para a técnica de soxhlet utilizando hexano como solvente os autores identificaram 10 compostos, sendo os majoritários o γ -Sitosterol (6,98%), vitamina E (4,37%), Lupeol (3,09%), 2,4-Di-tert-butylphenol (1,62%), esqualeno (1,48%), campesterol (1,00%).

Foram realizadas busca por título das seguintes palavras-chave: ultrasound, extraction, pereskia aculeata, ora-pro-nobis, extração, ultrassom no período de 2000 a 2022 nas bases de dados Periódicos Capes (2022), Springer (2022), Science Direct (2022), PubMed (2022) e Google Acadêmico (2022), e dentro destas buscas não foram encontrados estudos do rendimento e composição dos extratos vegetais de *Pereskia aculeata Mill.* utilizando a técnica de ultrassom para fins de comparação. No presente trabalho, conforme mostrado nas Tabelas 12, 13 e 14 foram encontradas 12 substâncias nos extratos em etanol e 19 para os extratos em hexano. Os compostos identificados que apresentaram picos de maior área relativa foram o 2-tetradeceno (26,35%), 1-hexadeceno (19,93%), 1-dodeceno (16,96%), esqualeno (13,34%), 3-octadeceno (8,24%) e fitol (5,86%) para o etanol como solvente e 3-metil-2-ciclopenten-1-ona (8,16%), 1,2,3-trimetilbenzeno (7,13%), ascaridol (5,43%), palmitato de metila (3,46%), octadecano (2,45%), Ácido oxálico, éster de isobutil tetradecil (2,20%), Z-14-Nonacosano (1,57%) e palmitato de etila (1,50%).

Cruz (2016) avaliou a composição dos extratos de sementes de *Butia catarinensis* obtidos por ultrassom e encontrou como compostos majoritários metilciclopentano (4,01%), 2,2,4,6,6 pentametilheptano (1,03%), octanoato de prata

(0,85%) e ácido cinâmico (0,25%) no extrato hexânicos e ácido cinâmico, p-(trimetilsiloxi), metil éster (25,85%), ácido cinâmico, m-(trimetilsiloxi), metil éster (8,86%), ácido caprílico (1,61%) e octanoato de prata (0,88%).

Tabela 10 - Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata* Miller obtido por Soxhlet/hexano de acordo com a metodologia proposta por Torres *et al.* (2022) via GC-MS

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
6,6047	3,6269	2,3-Dioxabicyclo[2.2.2]oct-5-ene	Ascaridol
15,8649	2,9034	Hexadecanoic acid, methyl ester	Palmitato de metila
16,5254	1,417	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Palmitato de etila
17,764	0,4867	Heptadecanoic acid, 16-methyl-, methyl ester	Isostearato de metila

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

⁽¹⁾ Metodologia de análise via GC-MS feita de acordo com as condições propostas por Torres *et al.* (2022a).

Tabela 11 - Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata* Miller obtido por Soxhlet/hexano de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS
(Continua)

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
40,1305	11,3497	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl	3-metil-2-ciclopentenona
7,1539	3,6008	2,3-Dimethyl-1,4-pentadiene	2,3-Dimetil-1,4-pentadieno
5,232	1,5392	3-Methylpenta-1,4-diene-3-ol	3-metilpenta-1,4-dieno-3-ol
12,0266	0,3281	1-Penten-3-yne, 2-methyl-	1-Penten-3-ine, 2-metil

(final)

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
40,6979	0,2287	Hexadecanoic acid, methyl ester	Palmitato de metila
19,7581	0,1307	6,8-Nonadien-2-one	6,8-Nonadien-2-ona
42,865	0,0762	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Palmitato de etila
25,6114	0,0627	2-Piperidinone, N-[4-bromo-n-butyl]-	1- (4-bromobutil) piperidin-2-ona
11,0284	0,0248	3-Oxabicyclo[3.3.0]octan-2-one, 4-methoxy-6-methylene-, trans-	3-Oxabicyclo[3.3.0]octan-2-one, 4-methoxy-6-methylene-, trans-

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

Tabela 12 - Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata* Miller obtido por Ultrassom/etanol de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS

(Continua)

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
21,3823	26,3485	2-Tetradecene, (E)	2-tetradeceno
29,197	19,9295	Cetene	1-Hexadeceno
13,2262	16,958	1-Dodecene	1-dodeceno
55,3422	13,3445	Squalene	Esqualeno
36,355	8,2441	3-Octadecene, (E)-	3-octadeceno
46,4593	5,8604	Phytol	Fitol
27,3889	3,2431	Benzene, 2,4-difluoro-1-isocyanato-	2,4-Difluorophenyl isocyanate

(Final)

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
42,8913	3,2355	3-Eicosene, (E)-	3-eicoseno
26,1061	2,0119	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	(3,5-ditert-butilfenoxi) - trimetilsilano
49,9223	0,5293	Tritetracontane	Tritetracontano
58,8577	0,2357	Eicosane	Eicosano
49,9486	0,0594	Hexatriacontane	Hexatriacontano

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Tabela 13 - Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata* Miller obtido por Ultrassom/hexano de acordo com a metodologia proposta por Torres *et al.* (2022) via GC-MS

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
6,5921	5,4286	2,3-Dioxabicyclo[2.2.2]oct-5-ene	Ascaridol
15,8714	3,4618	Hexadecanoic acid, methyl ester	Palmitato de metila
3,6548	2,4472	Octadecane	Octadecano
8,4086	2,1983	Oxalic acid, isobutyl tetradecyl ester	Ácido oxálico, éster de isobutil tetradecil
8,3006	1,5722	Z-14-Nonacosane	Z-14-Nonacosano
16,5319	1,5052	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Palmitato de etila
5,4171	1,0256	Benzene, 1,3-diethyl-	1,3-dietilbenzeno
9,5836	0,4333	9-Methyl-Z-10-tetradecen-1-ol acetate	[(Z) -9-metiltetradec-10-enil] acetato
13,515	0,3619	Eicosane	Eicosano

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Tabela 14 - Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata* Miller obtido por Ultrassom/hexano de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
5,5167	8,1656	2-Cyclopenten-1-one, 3-methyl-	3-metil-2-ciclopenten-1-ona
6,4755	7,1297	Benzene, 1,2,3- trimethyl-	1,2,3 - trimetilbenzeno
3,6473	0,7449	Furan, 2,5-dihydro-2,5- dimethyl-	2,5-Dimetil-2,5- dihidrofurano
11,2562	0,4688	cis-8-Methyl- bicyclo(4,3,0)non-3,7-diene	cis-8-Metil-biciclo (4,3,0) non 3,7-dieno
11,1205	0,4038	3- Oxabicyclo[3.3.0]octan-2-one, 4-methoxy-6-methylene-, trans-	3-Oxabicyclo[3.3.0]octan-2- one, 4-methoxy-6-methylene-, trans-
12,0311	0,2926	3-Cyclohexen-1-ol	3-ciclohexen-1-ol
40,7024	0,1057	Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	Ácido isopalmítico
25,4408	0,0676	Hentriacontane	Hentriacontano
16,7768	0,0641	Tetratetracontane	Tetratetracontano
11,0067	0,028	1-Penten-3-yne, 2- methyl-	2-Metil-1-penten-3-ino

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Alguns dos compostos majoritários identificados neste trabalho se destacam por possuírem aplicações biológicas e/ou comerciais relevantes, conforme verificadas na literatura disponível. O composto 3-metil-2-ciclopentanona é uma cetona cíclica, identificada em alguns alimentos, tais como o funcho (*Foeniculum Vulgare* Var.) e café (*Coffea arabica*). Possui sabor adocicado, frutado e gorduroso, tornando seu uso relevante como aromatizante e flavorizante (ESQUIVEL-FERRIÑO *et al.*, 2012; AYSELI; KELEBEK; SELI, 2021). Além disso, é utilizado como matéria-prima para

síntese de outras substâncias de origem natural, tais como jasminóides, muscona, prostanoides e cortisona (REN *et al.*, 2016). Esse composto foi identificado tanto para a extração soxhlet (hexano) quanto para ultrassom (etanol).

O ascaridol é um monoterpene amplamente estudado por sua atividade anti-helmintica (RIBEIRO, *et al.*, 2020). Essa substância é encontrada como composto majoritário nos óleos essenciais das plantas do gênero *Chenopodium*, tendo o mastruz (*Chenopodium ambrosioides*), uma das principais plantas de uso popular para o tratamento de verminoses, com 49,77% do ascaridol na composição do OE conforme identificado por Degenhardt *et al.* (2016). É relevante ressaltar que esse composto foi encontrado como majoritário em ambas as extrações a baixa pressão, utilizando o hexano como solvente.

Os ésteres metílico e etílico do ácido hexadecanóico foram identificados nos extratos obtidos com o soxhlet e ultrassom, no qual o hexano foi utilizado como solvente. São substâncias com alto grau de hidrofobicidade derivadas do ácido palmítico, obtidas a partir de uma reação de esterificação. Essas substâncias possuem uma vasta atividade biológica e seus usos vêm sendo estudados largamente nos últimos anos. Saeed *et al.* (2012) destacam a capacidade anti-inflamatória destes compostos. Em seus estudos os autores observaram a redução de edemas nas patas e orelhas em ratos wistar de sob diferentes condições experimentais. Foi observada atividade acaricida tanto para o palmitato de etila conforme verificado por Bu *et al.* (2012) quanto para o éster metílico, de acordo com Wang *et al.* (2009). Shaaban, Ghaly e Fahmi (2021) constataram a eficácia do éster metílico do ácido hexadecanóico na inibição de bactérias *Staphylococcus aureus* W35, *Pseudomonas aeruginosa* D31, *Klebsiella pneumoniae* DF30, e *K. pneumoniae* B40 multiresistentes a antibióticos.

Os hidrocarbonetos de cadeia longa 2-tetradeceno, 1-hexadeceno, 1-dodeceno identificados, obtidos com ultrassom utilizando etanol como solvente, também foram identificados em diversos extratos vegetais e apresentaram atividades biológicas relevantes. Tiloke *et al.* (2018) relataram a presença de 2-tetradeceno em sementes de *Moringa olifera*, e que este composto está associado a atividade anticancerígena no qual essa planta apresenta. Dentre os compostos majoritários identificados no óleo essencial de *Osmunda regalis* por Bouazzi *et al.* (2018) foi observada a presença do 1-hexadeceno e 1-dodeceno. Os autores cultivaram células epiteliais humanas e as

infectaram com o vírus *Coxsackie*, e observaram atividade antiviral para os cultivos feitos na presença do óleo essencial de *O. regalis*, tendo este como promissor agente antiviral.

O esqualeno é um triterpeno linear encontrado em organismos superiores. Pode ser encontrado em diversos vegetais, destacam-se o amaranto, óleo de oliva e soja, arroz, germe de trigo e amendoim. De acordo com a literatura, possui diversos benefícios a saúde humana, sendo comprovada sua ação quimioprotetiva e quimioterápica, inibindo o crescimento de células tumorais de pulmão, pele, mama e cólon (LOZANO-GRANDE *et al.*, 2018; GÜNEŞ, 2013.). Latief *et al.* (2020) identificaram esqualeno como composto majoritário dos extratos de *Abroma augusta*, obtidos pela maceração com os solventes hexano, acetato de etila e metanol, tendo este último apresentado maior rendimento (1,66%). Os autores também isolaram o composto do extrato metanólico e, juntamente com o extrato bruto, testaram a capacidade anti-inflamatória de ambos. Foi observada uma redução de 33 e 30% nos edemas provocados nas patas de ratos wistar para o uso do extrato bruto e do esqualeno isolado, indicando uma grande capacidade anti-inflamatória.

Dentre as técnicas de baixa pressão estudadas neste trabalho, pode se observar que uso do hexano como solvente, apesar de apresentar rendimentos estatisticamente menores quando comparados com o etanol, se mostrou menos seletivo na extração de substâncias voláteis. Por outro lado, o etanol apresentou maiores rendimentos e uma maior seletividade dos compostos extraídos, se mostrando o solvente estudado mais adequado para utilização como cossolvente na técnica de extração com CO₂ em estado supercrítico.

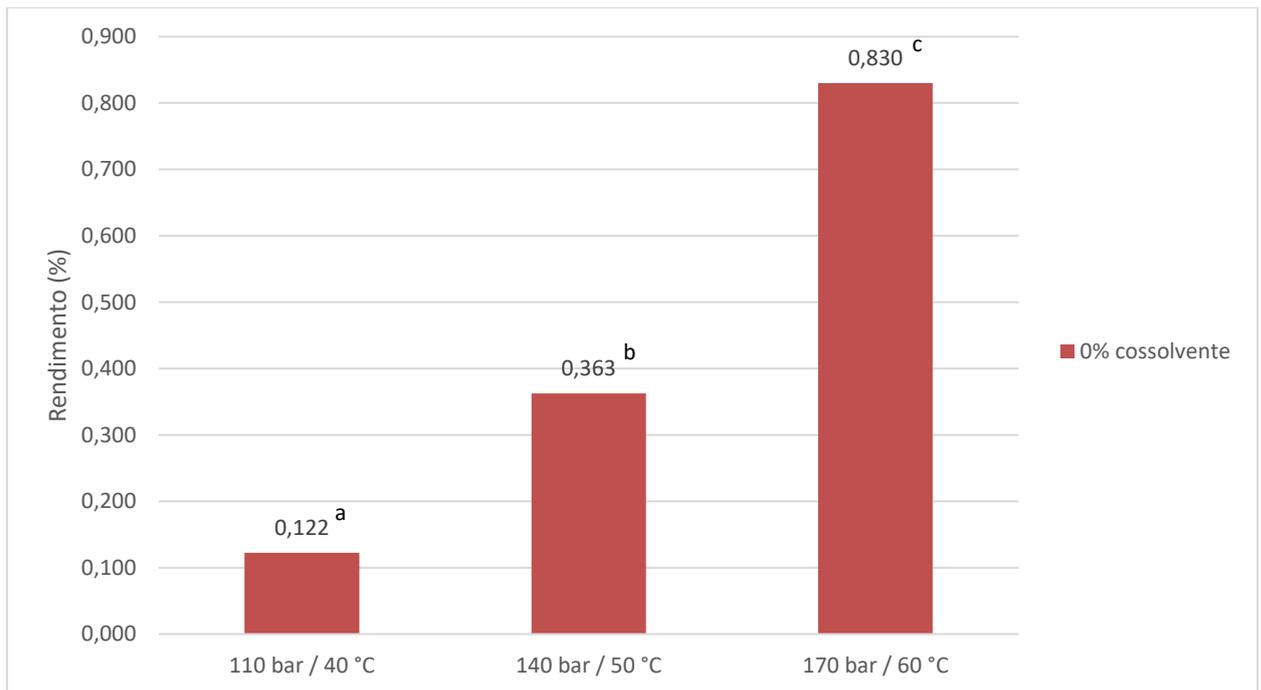
5.4 Extração por CO₂ em estado supercrítico

5.4.1 Rendimento do processo

Foram realizados testes preliminares com objetivo de se verificar o rendimento global da extração de substâncias bioativas das folhas de *Pereskia aculeata Mill.* utilizando CO₂ em estado supercrítico. Foram avaliadas três condições diferentes de

temperatura e pressão. Os resultados estão expressos de acordo com a Figura 14 a seguir:

Figura 14 – Rendimento global de extração das folhas de *Pereskia aculeata* Mill. utilizando CO₂ supercrítico sem o uso de cossolvente sob diferentes condições de temperatura e pressão. ⁽¹⁾



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

⁽¹⁾ As letras sobrescritas diferentes significam que as médias obtidas se diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey com significância de 95%.

De acordo com a Figura 13, pode-se observar que o rendimento do processo de extração é favorecido pelo aumento da pressão da temperatura e pressão. Torres *et al.* (2021) encontram rendimentos de 1,78% ($\pm 0,08$), 1,69% ($\pm 0,01$) e 1,68% ($\pm 0,11$) para as respectivas temperaturas de 40, 50 e 60 °C, não apresentando diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos rendimentos encontrados. Os valores de rendimento global de extração encontrados neste trabalho são inferiores aos relatados anteriormente, uma vez que a pressão utilizada por Torres *et al.* (2021) foi de 250 bar (25 MPa). Estes resultados indicam que maiores pressões contribuem para maiores rendimentos globais de extração.

Perante os bons resultados obtidos na utilização do etanol como solvente nas extrações sob baixa pressão, os efeitos do seu uso como cossolvente no processo de extração de biocompostos das folhas de *Pereskia aculeata* Mill. com o gás carbônico em estado supercrítico foi avaliado de acordo com o planejamento experimental fatorial DCCR. Os valores dos rendimentos obtidos estão expostos na Tabela 15 a seguir:

Tabela 15 – Rendimento global obtido pelo planejamento experimental DCCR para folhas de *Pereskia aculeata* Mill. obtidos por extração com CO₂ supercrítico com etanol como cossolvente

Ensaio	P _{real}	T _{real}	C _{Sreal}	R (%)
1	110	40	5	0,613
2	170	40	5	1,220
3	110	60	5	1,100
4	170	60	5	1,813
5	110	40	15	2,976
6	170	40	15	2,776
7	110	60	15	3,032
8	170	60	15	3,562
9	80	50	10	2,456
10	200	50	10	2,988
11	140	36	10	2,755
12	140	64	10	2,743
13	140	50	0	0,386
14	140	50	20	3,834
15	140	50	10	2,366
16	140	50	10	2,501
17	140	50	10	2,774
18	140	50	10	2,828

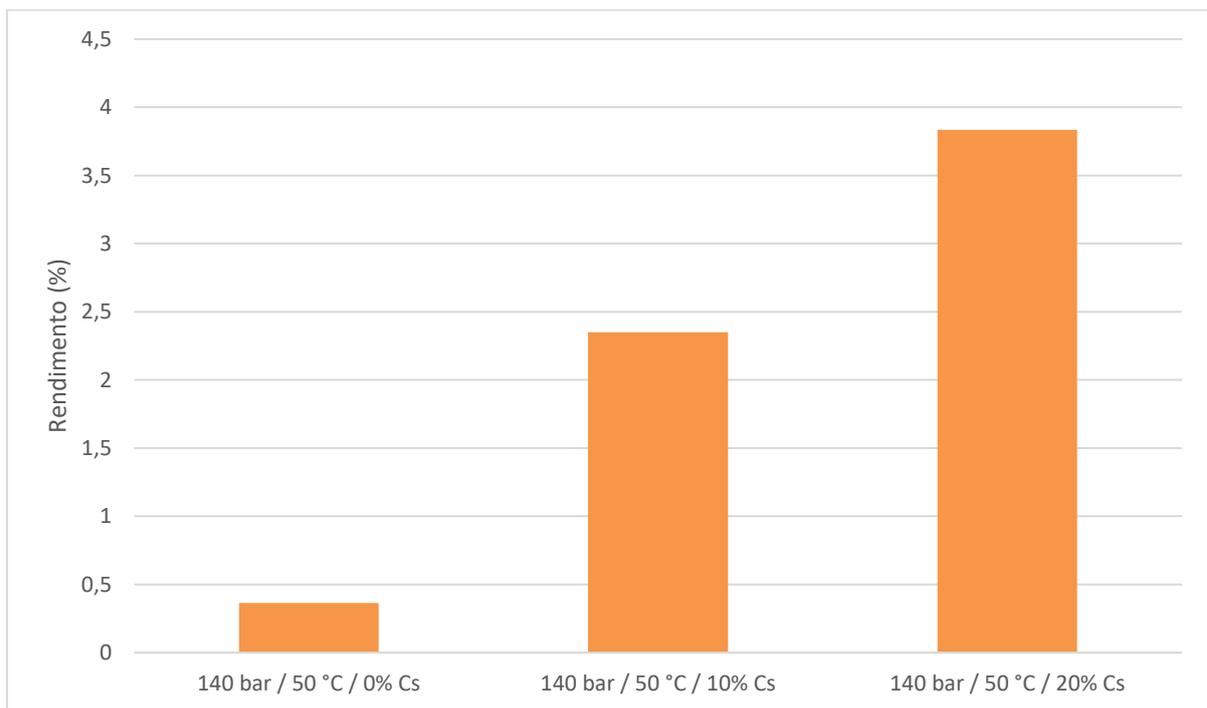
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Conforme observado na Tabela 15, o maior rendimento encontrado foi de 3,834% nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% de cossolvente e o menor rendimento foi aquele no qual não se usou cossolvente, 0,386% para as condições de 140 bar e 50 °C. Foram realizadas busca por título das seguintes palavras-chave: supercritical fluid extraction, supercritical CO₂, cossolvente, etanol, pereskia aculeata, ora-pro-

nobis, extração supercrítica, extração CO₂ supercrítico, cossolvente e etanol no período de 2000 a 2022 nas bases de dados Periódicos Capes (2022), Springer (2022), Science Direct (2022), PubMed (2022) e Google Acadêmico (2022), e não foram encontrados estudos na literatura que utilizassem o etanol como cossolvente no processo de extração de biomoléculas de *Pereskia aculeata* Miller com gás carbônico em estado supercrítico para fins de comparação.

A partir dos dados expostos é possível observar a influência da presença do cossolvente no aumento do rendimento global das extrações. Na Figura 15 ilustra-se a relação da porcentagem de cossolvente com o rendimento global das extrações.

Figura 15 – Relação entre o rendimento global da extração frente a concentração de cossolvente no processo de extração com CO₂ supercrítico de folhas de *Pereskia aculeata* Mill.



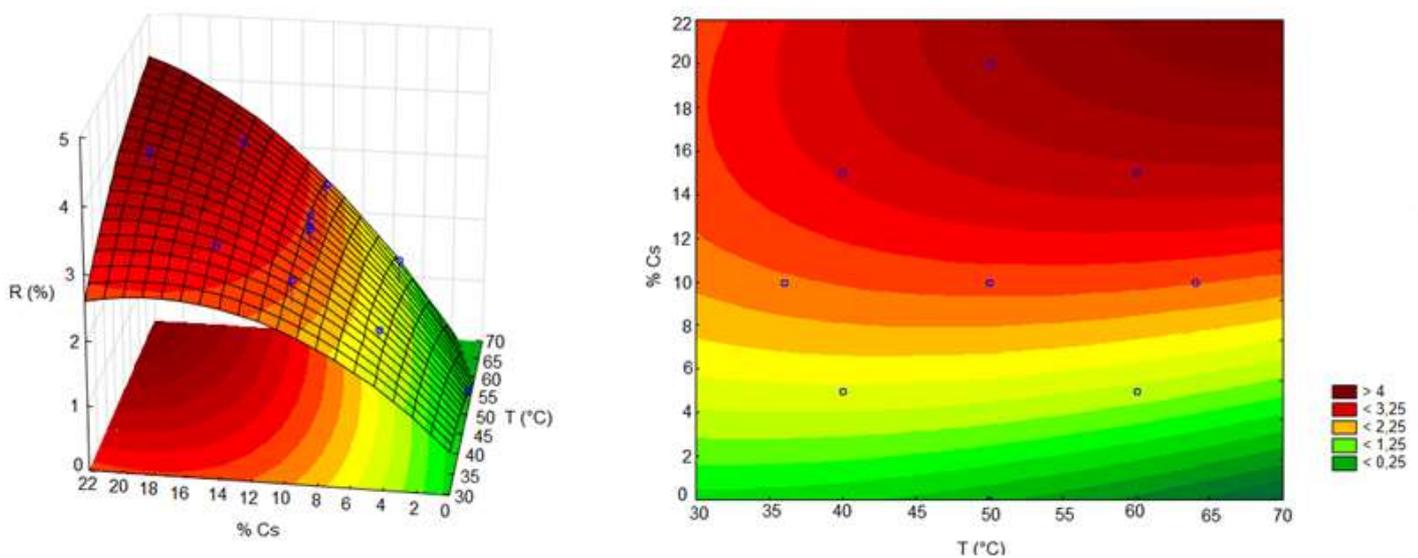
Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Tomando as condições centrais do planejamento experimental (140 bar e 50 °C) da Figura 14, pode-se observar que o aumento do rendimento global de extração ocorre com o aumento da concentração de cossolvente no processo, obtendo valores de 0,386%; 2,366% e 3,834% para 0%, 10% e 20% de cossolvente.

Pode-se observar um aumento relativo de 10 vezes quando comparada a menor e maior concentração de etanol utilizado. Devido ao caráter apolar que o CO₂ possui há apenas uma solubilização de substâncias igualmente apolares, e ao se adicionar etanol ao processo uma série de substâncias de caráter polar também são solubilizadas, ocasionando o aumento no número de substâncias extraídas e o respectivo aumento no rendimento do processo.

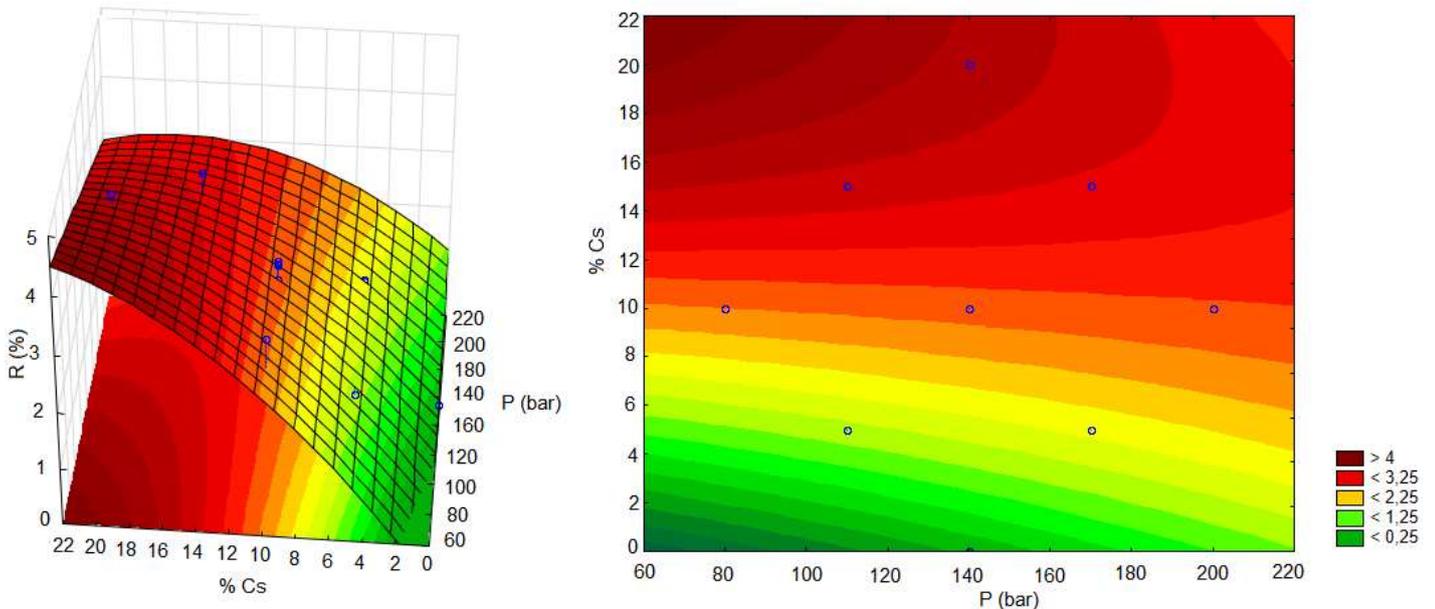
As Figuras 16 e 17 a ilustram relação entre a concentração de cossolvente com a pressão e temperatura frente ao rendimento do processo.

Figura 16 – Gráficos de linhas de contorno (A) e superfície de resposta (B) do rendimento global de extração supercrítica das folhas de *Pereskia aculeata* Mill: Temperatura em função da concentração do cossolvente



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Figura 17 – Gráficos de linhas de contorno (A) e superfície de resposta (B) do rendimento global de extração supercrítica das folhas de *Pereskia aculeata* Mill: Pressão em função da concentração do cossolvente



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

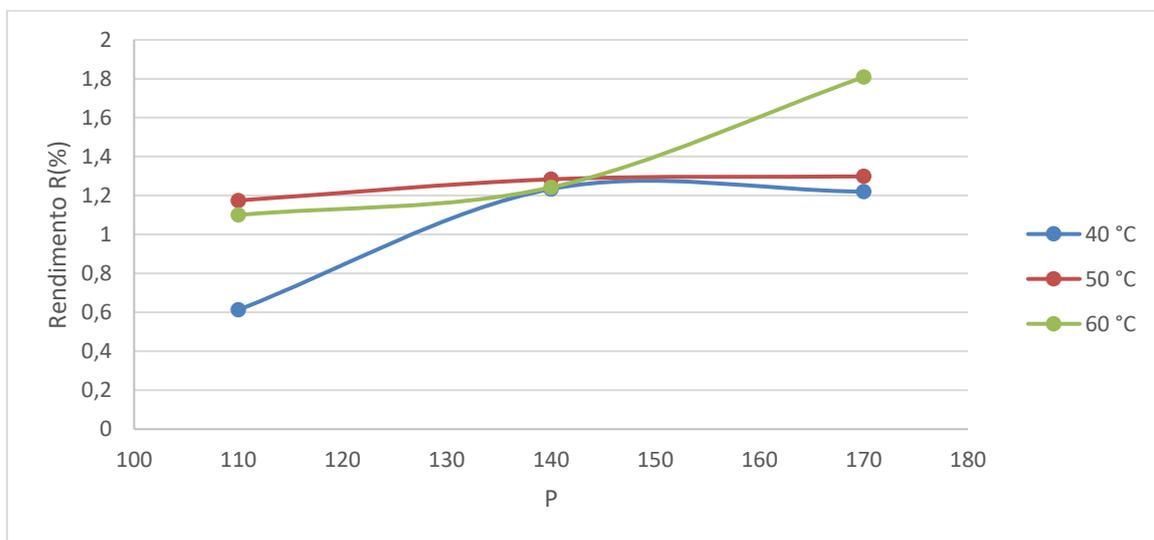
Os gráficos expostos na Figuras 16 mostra que o aumento da temperatura em função do aumento da concentração do cossolvente resulta em maiores valores do rendimento do processo de extração. No entanto, em baixas concentrações de cossolvente o aumento da temperatura não resulta em um aumento significativo do rendimento global. De acordo com o gráfico da Figura 17 maiores resultados de rendimento podem ser obtidos em menores faixas de pressão. Os gráficos das Figuras 16 e 17 mostram que o rendimento do processo é favorecido quando a concentração de cossolvente utilizada no processo é superior a 10%.

Diversos autores também obtiverem resultados satisfatórios ao utilizarem o etanol como cossolvente no processo extração com CO₂ supercrítico. Dentre eles, Cristofoli (2017) relatou um aumento de 13,8 vezes no rendimento do processo de extração quando se adicionou 7,5% de etanol ao processo, quando comparado com o rendimento utilizando apenas CO₂ puro. Frohlich *et al.* (2018) obtiveram um rendimento de 0,92% no processo de extração de folhas de *Syzygium aromaticum* ao utilizarem apenas CO₂ no processo, com a adição de 25% de cossolvente este valor aumentou para 1,33%. Pimentel *et al.* (2013) avaliaram o etanol e o metanol como

cossolventes no processo de extração supercrítico de folhas de *Piper piscatoru* e observaram que o maior rendimento do processo ocorreu quando se utilizou o etanol como cossolvente.

Pode-se observar na Figura 18 as isotermas do rendimento do processo, construídas nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressão de 110, 140 e 170 bar.

Figura 18 – Isotermas de rendimento do processo de extração com CO₂ supercrítico das folhas de *Pereskia aculeata Mill.* com 5% de cossolvente



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Conforme a Figura 17 acima, pode-se perceber que para uma mesma faixa de temperatura constante, o aumento da pressão do sistema promove maiores rendimentos. Isso pode ser explicado, pois, conforme dito anteriormente, ao se elevar a pressão ocorre uma elevação da densidade do fluido supercrítico e conseqüente aumento no poder de solvatação do fluido, no qual observa-se que o rendimento do processo à temperatura constante de 40 °C praticamente dobrou, aumentando de 0,613% para 1,22% quando elevada a pressão de 110 bar para 170 bar.

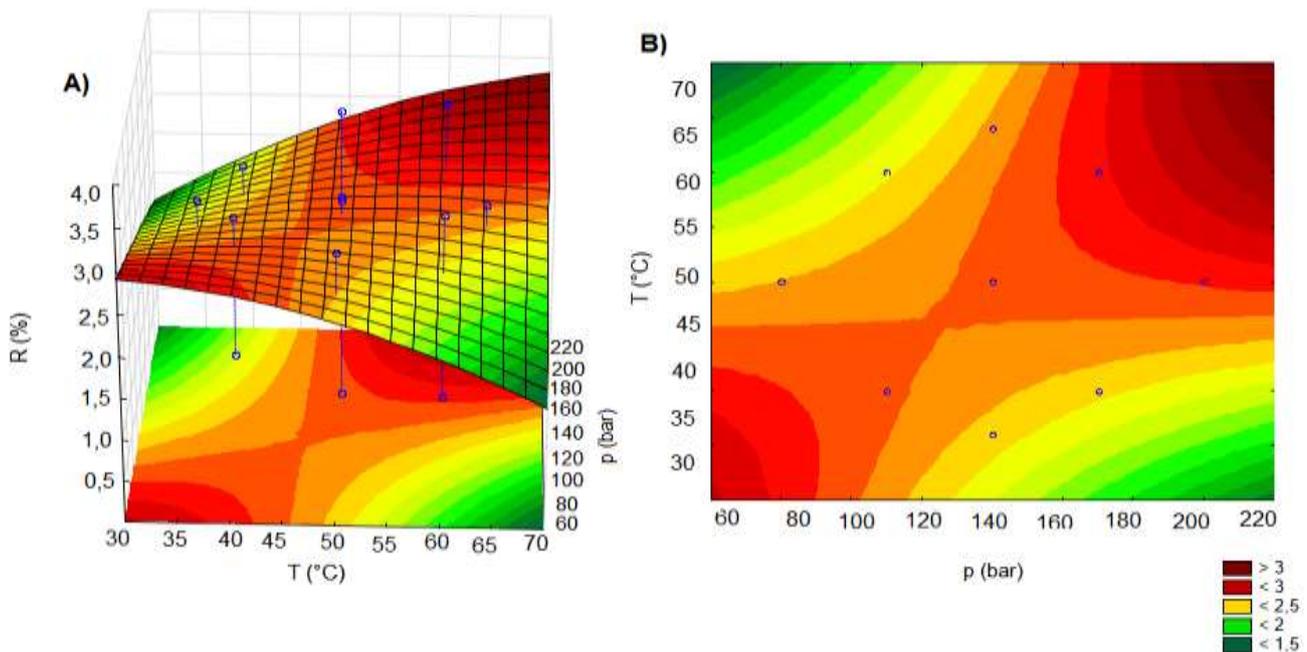
De acordo com Bruner (1994), a diminuição da temperatura do sistema proporciona o aumento da pressão de vapor e da densidade do solvente. Sendo assim, o processo tende a apresentar maiores rendimentos em menores temperaturas, pois o poder de solvatação é favorecido nesta situação. Este efeito pode ser observado neste processo, conforme exposto na Tabela 15, na condição de

36 °C, 140 bar e 10% cossolvente, obteve-se um rendimento de 2,755% e para a mesma faixa de pressão e concentração de cossolvente, as temperaturas de 50 e 66 °C apresentaram rendimentos de 2,387% e 2,743%, respectivamente. Este fenômeno também pode ser observado com o auxílio das isotermas representadas na Figura 17, no qual o rendimento do processo a 50 °C se manteve superior à temperatura de 60 °C nas pressões de 110 e 140 bar. Para esses casos o efeito da pressão de vapor é dominante no processo de extração.

Ainda analisando as curvas da Figura 17, percebe-se uma inversão nas isotermas de 50 e 60 °C, a partir da pressão de 140 bar. Esse fenômeno é conhecido como retrogradação, e implica na mudança do efeito dominante do processo. Neste caso, a elevação da pressão, que ocasiona um aumento na densidade do solvente, passa a ser dominante no processo, apresentando maiores valores de rendimento, enquanto o efeito da pressão de vapor do solvente já não se faz tão relevante ao processo (BRUNER, 1994). De acordo com a Tabela 15, na mesma faixa de 50 °C e 10% de cossolvente observa-se uma diminuição do rendimento de 2,456% para 2,366% ao elevar a pressão de 80 bar para 140 bar, e ao continuar a elevar a pressão para 200 bar o rendimento voltou a crescer, apresentando um valor de 2,988%, indicando a predominância do efeito da massa específica do CO₂ no processo.

Os gráficos expostos na Figura 19 a ilustram com precisão este fenômeno, no qual pode se observar uma inversão no rendimento do processo quando este atinge uma pressão circundante a 140 bar e temperatura de 50 °C, evidenciando mais uma vez o fenômeno da retrogradação do processo.

Figura 19 – Gráficos de linhas de contorno (A) e superfície de resposta (B) do rendimento global de extração supercrítica das folhas de *Pereskia aculeata* Mill: Temperatura em função pressão.



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Beneli (2010) relatou a inversão das isotermas a 40 e 50 °C na faixa de pressão de 140 a 150 bar ao estudar a extração de biomoléculas presentes na casca de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) em meio supercrítico. A autora pontuou uma diminuição do rendimento quando há ocorre um aumento na temperatura de 40 para 50°C abaixo do ponto de inversão das isotermas, de 1,66% para 0,84%. Além disso, também observou que o aumento da temperatura relatado acima de 150 bar promoveu um aumento no rendimento do processo, evidenciando o efeito dominante da pressão de vapor acima desta pressão. A inversão das isotermas do processo de extração supercrítica da *Cordia verbenacea* (erva baleeira) estudadas a 30, 40 e 50 °C também foi relatada por Michielin *et al.* (2009) na faixa de pressão que compreende 14 e 15 MPa.

A curva do gráfico da Figura 19 mostrou que R cresce à medida que se afasta das condições centras de temperatura (50 °C) e pressão (140 bar), isso resultou numa curva de superfície do tipo sela, evidenciando-se dois pontos de R máximo locais. O primeiro em temperaturas e pressões mais baixas, em que o efeito da pressão de vapor é mais evidenciado e um segundo em temperaturas e pressões elevadas, no

qual o aumento da densidade do solvente é o efeito responsável por valores mais elevados do rendimento. No entanto, vale ressaltar que temperaturas e pressões inferiores a 31,1 °C e 73,8 bar estão fora da faixa supercrítica do gás carbônico, tornando inviável a operação do processo abaixo deste ponto, indicando assim condições de operação mais favoráveis em temperaturas e pressões elevadas.

5.4.2 Análise estatística

Os resultados análise de variância ANOVA realizada para os dados de rendimento do processo de extração supercrítica das folhas de ora-pro-nobis de acordo com o planejamento experimental DCCR estão descritos na Tabela 16.

Tabela 16 – Análise ANOVA para o rendimento do processo de extração supercrítica das folhas de *Pereskia aculeata* Mill.

Fatores ⁽¹⁾	SQ ⁽²⁾	GL ⁽³⁾	QM ⁽⁴⁾	Fcal	P	R ² ⁽⁵⁾	R ² _{aj} ⁽⁶⁾
(1) p (L)	0,00879	1	0,00879	0,1804	0,699616	0,92601	0,84277
p (Q)	0,03033	1	0,03033	0,6226	0,487706		
(2) T (L)	0,04451	1	0,04451	0,9137	0,409655		
T (Q)	0,00016	1	0,00016	0,0033	0,957501		
(3) %Cs (L)	11,3072	1	11,30725	232,1094	0,000614		
%Cs (Q)	0,57926	1	0,57926	11,8908	0,040987		
1L x 2 L	0,17102	1	0,17102	3,5107	0,157677		
1L x 3L	0,22515	1	0,22515	4,6218	0,120725		
2L x 3 L	0,17752	1	0,17752	3,6440	0,152286		
Falta de ajuste	0,85738	5	0,17148	3,5200	0,164621		
Erro puro	0,14615	3	0,04872				
Total SQ	13,5632	17					
	2						

Fonte: Elaborado pelo autor (2022)

(1) p: pressão; T: temperatura; Cs: concentração de cossolvente.

(2) SQ: Soma dos quadrados.

(3) GL: Graus de liberdade.

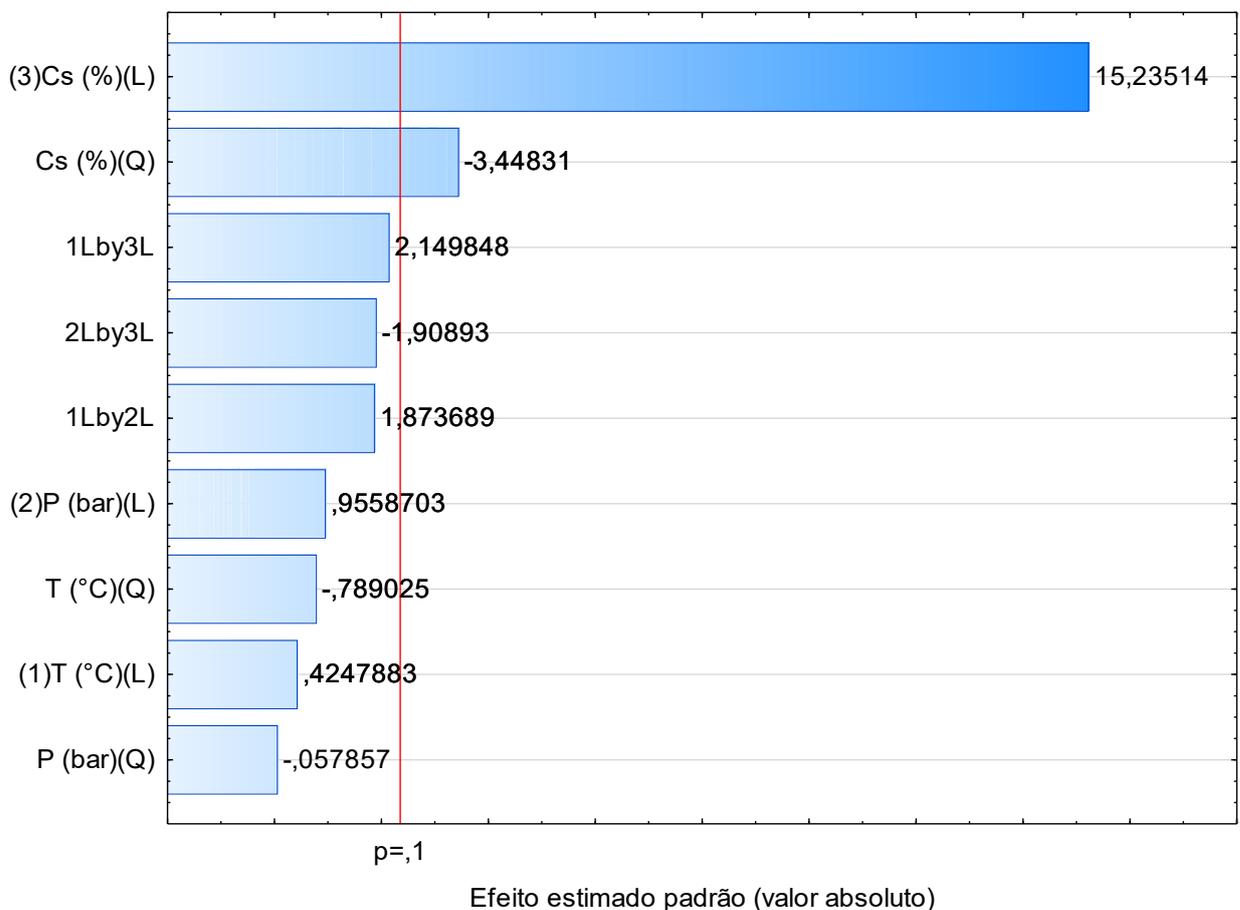
(4) QM: Quadrado médio.

(5) R^2 : Coeficiente de determinação = SQr/SQT .

(6) R^2_{aj} : R^2 ajustado.

Os valores em negrito representam significância estatística, com $p < 0,1$. Pode ser observado que a concentração de cossolvente foi o fator que apresentou significância estatística nos modelos linear e quadrático. Isso mostra que essa variável contribuiu com mais de 90% do aumento do rendimento global do processo. Esses resultados mostram que o uso do etanol como cossolvente na ESF-CO₂ favoreceu o aumento do rendimento global do processo. A influência da varável cossolvente também pode ser verificada na Figura 20.

Figura 20 – Gráfico de Pareto: influência das variáveis estudadas no rendimento do processo de extração supercrítica das folhas de *Pereskia aculeata Mill.*



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

O modelo matemático obtido para a concentração de cossolvente está descrito na equação:

$$-0,159056x^2 + 0,710801x + 2,620296 = 0 \quad (5)$$

De acordo com o valor de encontrado de R^2 e R^2_{aj} pode se inferir que 92,6% (para o modelo de regressão linear) e 84,3% (para o modelo de regressão múltipla) do aumento do rendimento é explicado pela variação da concentração do cossolvente no processo. Na Tabela 17 é mostrado os coeficientes de regressão encontrados.

Tabela 17 – Coeficientes de regressão para a os valores do rendimento global da extração supercrítica de folhas de *Pereskia aculeata* Miller

Fatores ⁽¹⁾	Coeficiente de regressão	Erro padrão	t (4)	p	- 90%	+ 90%
Média	2,620296	0,110353	23,74467	0,000164	2,360595	2,879997
(1) T (L)	0,054312	0,127857	0,42479	0,699616	-0,246581	0,355206
T (Q)	-0,130710	0,165660	-0,78902	0,487706	-0,520568	0,259148
(2) p (L)	0,105488	0,110358	0,95587	0,409655	-0,154224	0,365199
p (Q)	-0,005337	0,092252	-0,05786	0,957501	-0,222439	0,211764
(3) %Cs (L)	1,681313	0,110358	15,23514	0,000614	1,421601	1,941024
%Cs (Q)	-0,318112	0,092252	-3,44831	0,040987	-0,535214	-0,101011
1L x 2 L	0,292425	0,156069	1,87369	0,157677	-0,074862	0,659712
1L x 3L	0,335525	0,156069	2,14985	0,120725	-0,031762	0,702812
2L x 3 L	-0,297925	0,156069	-1,90893	0,152286	-0,665212	0,069362

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

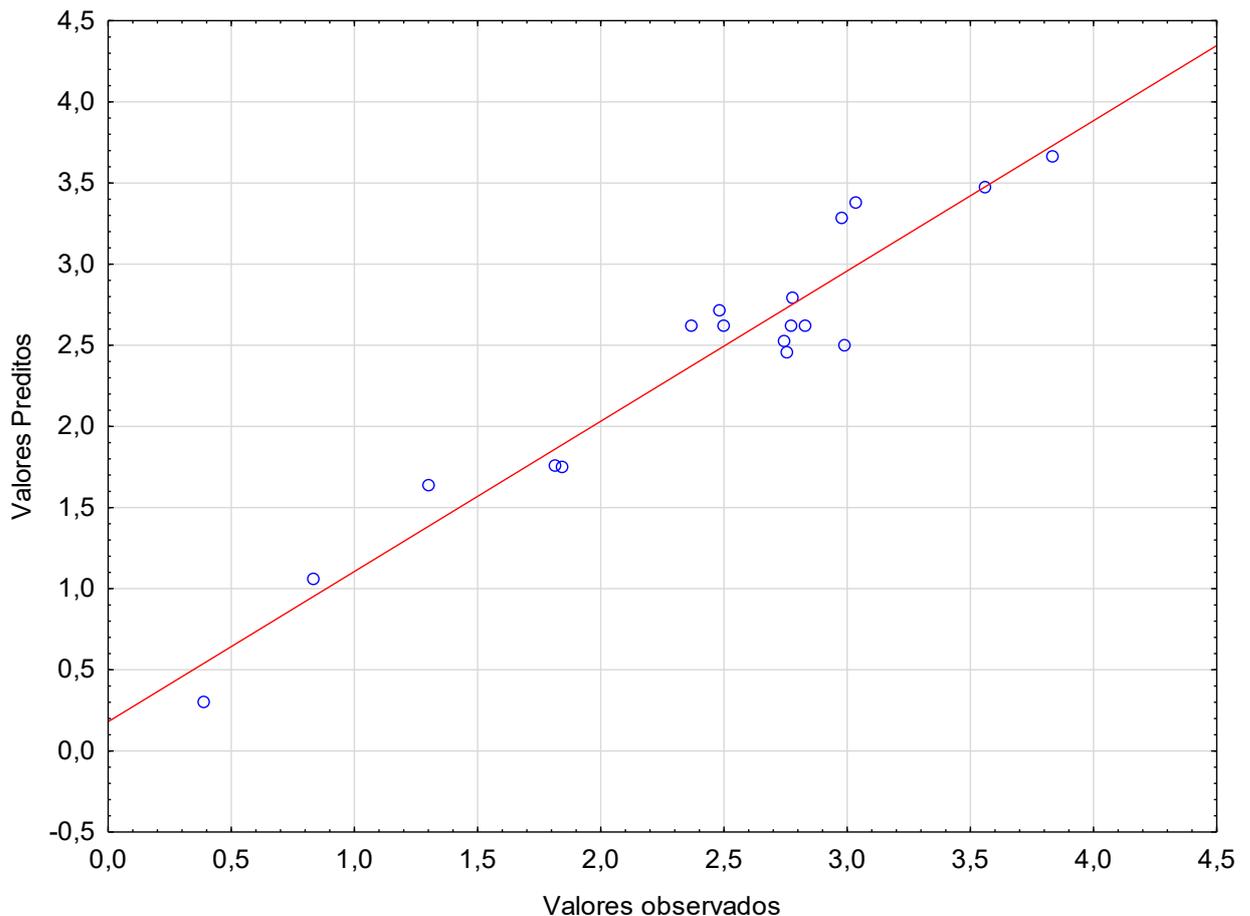
⁽¹⁾ P: pressão; T: temperatura; Cs: concentração de cossolvente.

Os dados expostos na Tabela 17 a são referentes aos coeficientes de regressão preditivos linear (L) e quadrático (Q) do rendimento global da extração supercrítica das folhas de *P. aculeata* Mill. em função das variáveis pressão, temperatura (T) e concentração (T) de cossolvente (%Cs). Os valores expostos em negrito apresentaram significância estatística maior que 90% ($p < 0,10$). A variável

%Cs apresentou valores de p dentro da faixa de significância, apontando para uma maior dependência de R associado ao fator %Cs do que aos demais (T e p).

O valor de R^2 , que representa o ajuste da reta de regressão frente ao conjunto dos dados obtidos no processo, fornece a proporção da variação explicada da equação de regressão linear pela variação total das respostas obtidas. Sendo assim, o modelo proposto possui uma preditibilidade significativa. Além disso, o gráfico dos valores preditos pelo modelo estatístico frente aos valores encontrados no processo está representado na Figura 21. É possível observar que pontos (valores de rendimento) obtidos no processo de extração se adequaram bem ao modelo linear predito (linha vermelha).

Figura 21 – Preditibilidade do processo de extração supercrítica de folhas de *Pereskia aculeata* Mill.

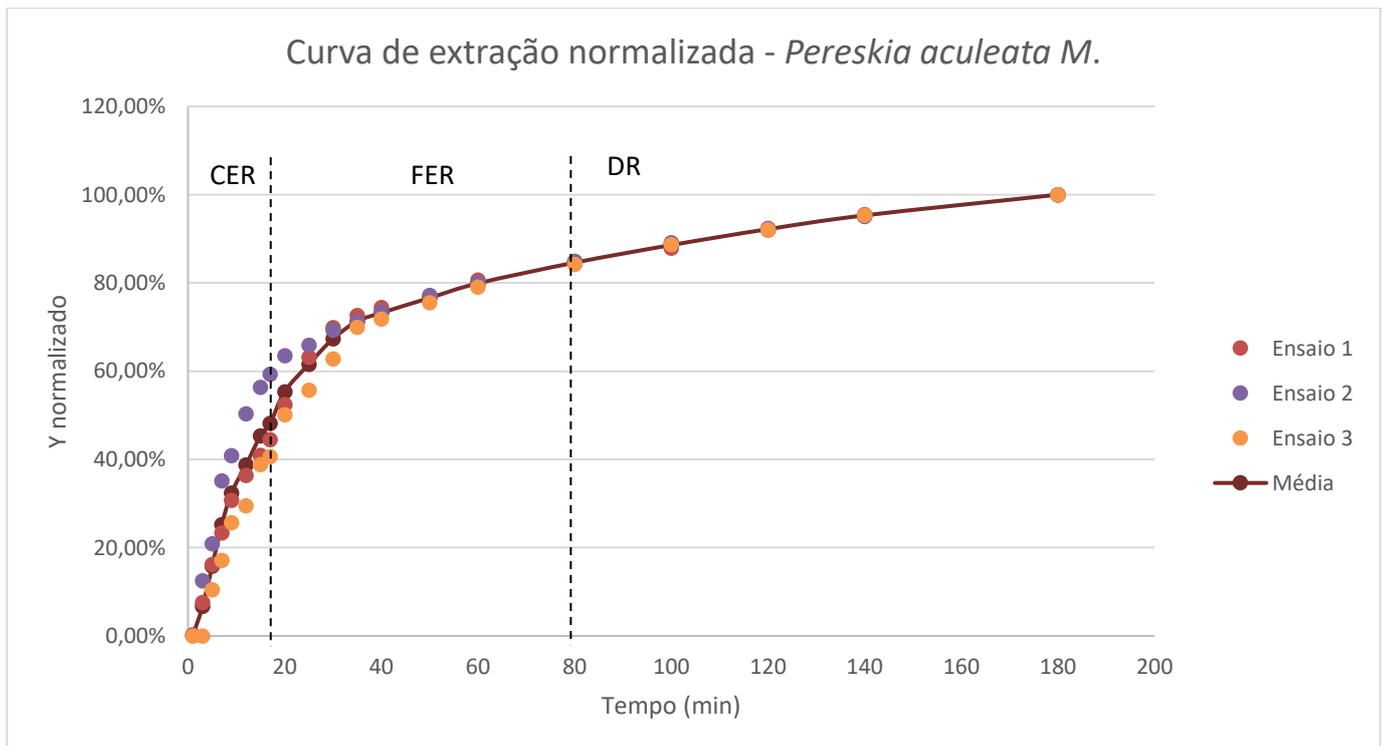


Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

5.4.3 Curvas globais de extração

Conforme mencionado anteriormente, as condições experimentais de 140 bar, 50 °C, 20% de cossolvente e vazão de 3 mL CO₂/min proporcionaram o maior rendimento do processo de extração. Perante esta informação, realizou-se o estudo do comportamento da massa extraída no processo em função do tempo. Na Figura 22 mostra-se as curvas cinéticas obtidas para cada ensaio da triplicata realizada. A linha sólida representa a média dos valores obtidos.

Figura 22 – Curva de extração supercrítica normalizada para folhas de *Pereskia aculeata* Miller



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

A partir da curva cinética obtida, exposta na Figura 21, é possível constatar um comportamento típico das curvas de extração com CO₂ supercrítico, no qual três pode-se observar as três etapas do processo de extração supercrítica, conforme descrito no item 3.3.4.3 (LAURENTINO, 2017).

A primeira etapa (CER), conhecida como etapa de extração constante ocorreu de forma rápida e crescente nos primeiros 20 minutos de extração. Pode-se perceber

um comportamento linear da curva de extração neste intervalo de tempo. Os altos valores de extração encontrados nesta etapa, superiores a 50% da massa total extraída, ocorrem devido à alta solubilização das substâncias pelos solventes, uma vez que após a etapa de moagem do material, os compostos presentes no interior das células se depositam na superfície das partículas, facilitando sua remoção. A etapa seguinte (FER), caracterizada pelo platô da curva, a taxa de extração começa a cair, indicando que a mobilidade do solvente pelas partículas de *P. aculeata* Mill. cai em função do tempo. Na etapa de difusional (DR) há uma baixa solubilização do soluto pelos solventes, apresentando uma baixa variação de massa extraída em função do tempo, no qual em mais da metade do tempo total de extração houve apenas uma extração de 15,4% da massa total extraída (DAHNS *et al.*, 2009).

5.4.4 Identificação de substâncias dos extratos supercríticos de *Pereskia aculeata* Mill.

Foi investigada a composição dos extratos supercríticos das folhas de ora-pro-nobis nos quais apresentaram os maiores rendimentos no processo. Sendo assim, os ensaios 14 (140 bar, 50°C, 20% Cs e 3,834 % R) e 8 (170 bar, 60 °C, 15% Cs e 3,562% R) foram submetidos a análise de GC-MS nas metodologias de Torres *et al.* (2021) e Adams (2017). A seguir, componentes identificados estão descritos nas Tabelas 18, 19 para o ensaio 14 e nas Tabelas 20 e 21 para o ensaio 8.

Tabela 18 – Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata* Miller obtido por ESF-CO₂ nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% Cs de acordo com a metodologia proposta por Torres *et al.* (2022) via GC-MS

Tempo de Retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
16,532	6,4567	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Palmitato de etila

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Tabela 19 - Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata* Miller obtido por ESF-CO₂ nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% Cs de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS

(Continua)

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
46,4945	44,9329	Phytol	Fitol
60,0268	5,0806	Heptadecane	Heptadecano
42,0333	4,4642	n-Hexadecanoic acid	Ácido hexadecanóico/ácido palmítico
42,9177	3,9068	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Palmitato de etila
48,0618	3,6371	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	α -linonelato de etila
55,3249	2,5957	Squalene	Esqualeno
38,0625	2,014	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	Fitona
26,4478	1,8753	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	Dihydroactinidiolide
50,0407	1,7979	Eicosane	Eicosano
40,4223	1,5899	5,9,13-Pentadecatrien-2-one, 6,10,14-trimethyl-, (E,E)-	Farnesil Acetona
47,8779	1,4673	Linoleic acid ethyl ester	Linonelato de etila
46,0655	1,0471	9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	α -linonelato de metila

(Continua)

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
28,2997	0,9248	4,6(1H)- Pyrimidinedione, 3,4,5,6- tetrahydro-2-imino	Malonil guanidina
49,581	0,893	9-Undecen-2-one, 6,10- dimethyl	9-Undecen-2-ona, 6,10- dimetil
46,7309	0,8054	3-Eicosene, (E)-	3-Eicosano
47,2826	0,786	Cyclopropaneoctanal, 2-octyl	Ciclopropanoetanal
53,9677	0,7286	3-Cyclohexene-1- methanol, .alpha.,4-dimethyl- .alpha.-(4-methyl-3-pentenyl)-, [R-(R*,R*)]	α -bisabolol
51,8137	0,6705	Heptacosane, 1-chloro-	1-Cloroheptacosano
53,0921	0,5286	4,8,12,16- Tetramethylheptadecan-4- olide	4,8,12,16- Tetrametilheptadecan-4-olida
38,728	0,492	Phthalic acid, butyl tetradecyl ester	Butil-tetradecil éster ácido ftálico
40,7462	0,4621	Hexadecanoic acid, methyl ester	Palmitato de metila
58,1705	0,4449	Diisooctyl phthalate	Ftalato de diisooctil
47,1118	0,4222	13- Oxabicyclo[10.1.0]tridecane	Epoxiciclododecano
32,4806	0,4019	3-Buten-2-one, 4-(4- hydroxy-2,2,6-trimethyl-7- oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl)	3-Hidroxi-5,6-epoxi-beta- ionona

(Continua)

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
18,0946	0,4014	2-Methoxy-4-vinylphenol	4-vinilguaiacol
45,8816	0,3998	10,13-Octadecadienoic acid, methyl ester	Éster metílico do ácido 10,13-octadecadienóico
46,9279	0,3987	9-Eicosene, (E)-	9-Eicosano
35,6809	0,3806	Benzenesulfonamide, N-butyl	Benzenossulfonamida
48,8849	0,3699	Octadecanoic acid, ethyl ester	Estearaato de etila
23,7597	0,3531	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)	Trans-geranil acetona
49,743	0,3098	Tritetracontane	Tritetracontano
29,1709	0,2997	Diethyl Phthalate	Ftalato de dietila
34,2056	0,2607	Cyclobutane, 1-butyl-2-ethyl	1-butil-2-etil-ciclobutano
24,9899	0,2119	3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)	β -Ionone
50,0144	0,2095	2-methyloctacosane	2-Metiloctacosano
28,4222	0,1891	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1a.alpha.,4a.alpha.,7.beta.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	Espatulanol

(Fim)

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
50,137	0,1158	Tricosane	Tricosano
50,3603	0,1081	Tetracosane	Tetracosano
49,0381	0,1041	Cycloeicosane	Cicloeicosano

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Tabela 20 – Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata Miller* obtido por ESF-CO₂ nas condições de 170 bar, 60 °C e 15% Cs de acordo com a metodologia proposta por Torres *et al.* (2022) via GC-MS

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
16,5257	16,4132	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Palmitato de etila

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

(¹) Metodologia de análise via GC-MS feita de acordo com as condições propostas por Torres *et al.* (2022a).

Tabela 21 – Compostos voláteis identificados no extrato de *Pereskia aculeata Miller* obtido por ESF-CO₂ nas condições de 170 bar, 60 °C e 15% Cs de acordo com a metodologia proposta por Adam (2017) via GC-MS.

(Continua)

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
46,4726	53,6289	Phytol	Fitol
15,0077	19,3058	Phytol, acetate	Acetato de Fitol

(continua)

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
48,0574	9,3738	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)	α -linonelato de etila
42,9177	8,9028	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Pamitato de etila
55,3292	5,1609	Squalene	Esqualeno
35,0461	4,2801	1-(2-Thienyl)-1-propanone	2-Propionil Tiofeno
47,8779	3,4965	Linoleic acid ethyl ester	Linonelato de etila
38,0669	2,5972	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	Fitona
40,4222	1,5636	2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl	Trans-Farnesol
35,9786	1,211	2-Cyclohexen-1-one, 4-hydroxy-3,5,6-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl)	2-Ciclohexen-1-ona, 4-hidroxi-3,5,6-trimetil-4-(3-oxo-1-butenil)
49,5809	1,2075	Isophytol	Isofitol
26,4521	1,0544	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	Dihydroactinidiolide
53,972	0,894	2,6,10,14-Hexadecatetraen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, acetate, (E,E,E)	2,6,10,14-Hexadecatetraen-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil-, acetato, (E,E,E)
41,9457	0,8671	n-Hexadecanoic acid	Ácido hexadecanóico/ácido palmítico

(Fim)

Tempo de retenção	Área relativa	Composto identificado	Sinônimo
46,0698	0,7307	9,12,15- Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)	α -linonelato de metila
48,8848	0,7285	Octadecanoic acid, ethyl ester	Estearato de etila
58,1749	0,7213	Tricyclo[4.3.1.1(3,8)]undecane, 1-bromo	1-Bromohomoadamantano
53,0964	0,5335	4,8,12,16- Tetramethylheptadecan-4-olide	4,8,12,16- Tetrametilheptadecan-4-olida
34,2011	0,396	6-Tridecene, 7-methyl	6-Trideceno, 7-metil
40,7506	0,3855	Hexadecanoic acid, methyl ester	Palmitato de metila
27,389	0,3788	Benzene, 2,4-difluoro-1-isocyanato	2,4-Difluorofenil isocianato
29,1796	0,3566	Diethyl Phthalate	Ftalato de dietila
45,8772	0,1924	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	Éster metílico do ácido octadecanóico

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Analisando os dados expostos acima, pode-se contabilizar um total de 40 compostos identificados no extrato do ensaio 14 e 24 para o ensaio 8. Conforme discutido anteriormente no item 5.4.2, a concentração de cossolvente é o fator que mais influenciou no rendimento do processo, sendo também observada esta influência na composição do extrato, pois ao se utilizar 20% de cossolvente no ensaio 14 houve uma maior solubilização dos compostos presentes nas folhas de *Pereskia aculeata*

Mill., contribuindo assim para uma maior massa de extrato obtido no processo de extração.

No entanto, ao comparar a área relativa dos compostos majoritários extraídos em ambos experimentos, pode-se inferir que as maiores condições de temperatura e pressão, na quais o ensaio 8 foi conduzido, contribuíram para uma maior seletividade dos compostos identificados. Esta diferença pode ser notada, por exemplo, em ambas as metodologias de análise por GC-MS estudadas, no qual o ensaio 8 apresentou maiores áreas relativas para o Palmitato de etila (16,41%) e Fitol (53,63%) enquanto no ensaio 14 se obteve 6,46% para o Palmitato de etila e 44,93% de área relativa de Fitol. Este efeito pode ser explicado, pois aumento da capacidade de solvatação do CO₂ é aumentado com a elevação da pressão, conforme dito anteriormente. Torres *et al.* (2021) observaram esta mesma relação, uma vez que a área relativa dos compostos majoritários identificados no processo de extração supercrítica com CO₂ puro foi maior na temperatura de 60 °C quando comparada com as demais temperaturas de 40 e 60 °C estudadas.

Os compostos encontrados no processo de extração supercrítica de maior pico da área relativa foram os mesmos para ambos os ensaios – Fitol e Palmitato de etila, para as duas metodologias de análise estudadas. Além destas, para o ensaio 14, foram identificados os compostos heptadecano (5,08%), Ácido palmítico (4,46%), α -linonelato de etila (3,64%), esqualeno (2,59%) e fitona (2,01%) e para o ensaio 8 identificou-se acetato de fitol (19,30%), α -linonelato de etila (9,37%), esqualeno (5,16%), 2-Propionil Tiofeno (4,28%) e linonelato de etila (3,50%).

O estudo das propriedades biológicas fitol, diterpeno derivado da clorofila, vem crescendo os últimos anos devido a relevância dos resultados encontrados. Foram constatadas atividades anti-inflamatória (SILVA, *et al.*, 2013), antimicrobiana (PEJIN *et al.*, 2014; MORAES *et al.*, 2014), anticonvulsiva (COSTA *et al.*, 2012), anticancerígena (ITOH *et al.*, 2018; DE ALENCAR *et al.*, 2019; KIM *et al.*, 2015) dentre outras, se destacando como uma substância com alto valor terapêutico com potencial farmacológico (ISLAM *et al.*, 2015).

O heptadecano é um alcano volátil de cadeia longa (C₁₇H₃₆) identificado como composto majoritário nos extratos etanólicos de *Eclipta prostrata*, apresentando uma área relativa de 14,78% do pico do cromatograma, feita com GC-MS. Os extratos

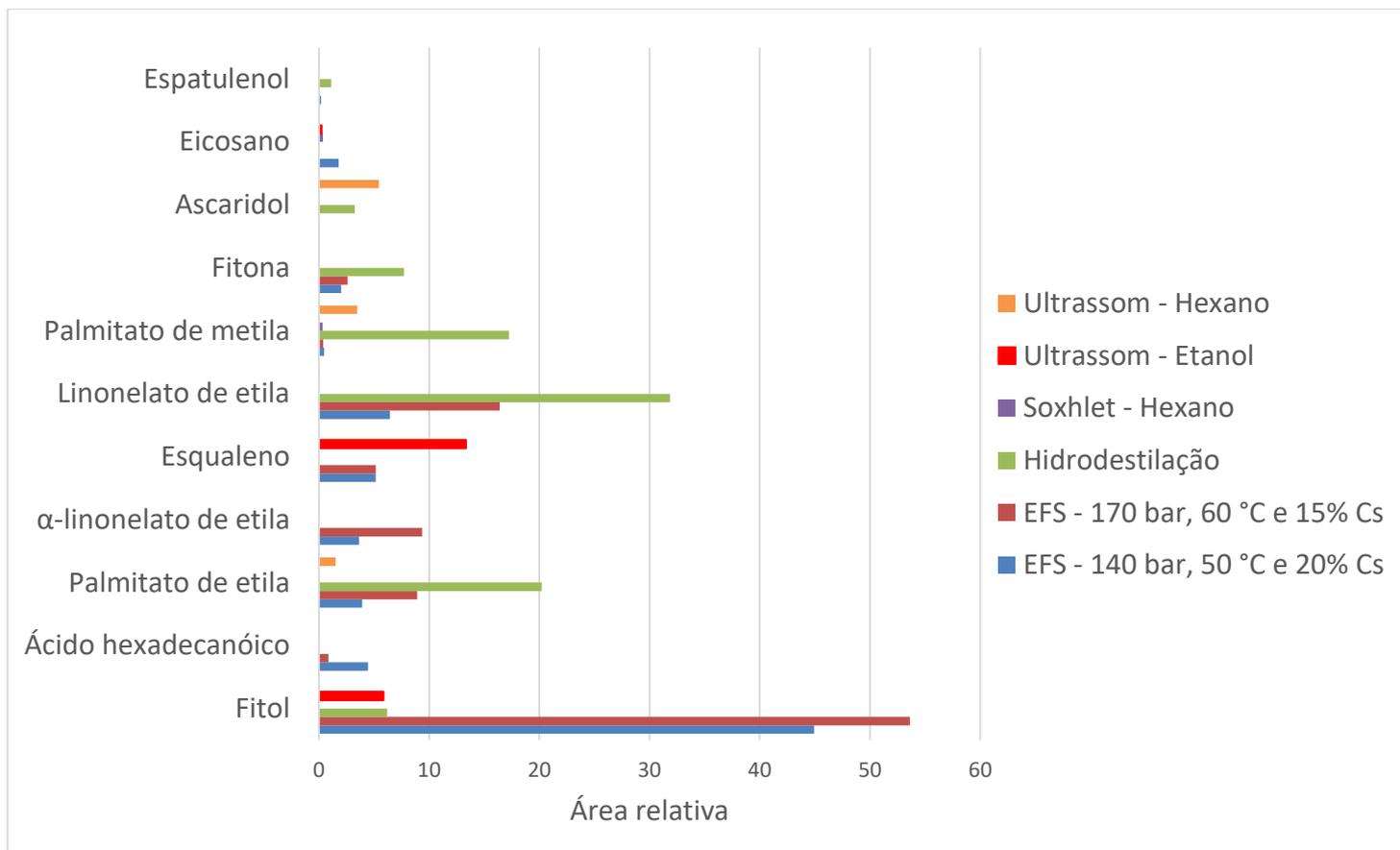
foram utilizados no cultivo de células ósseas e observou-se que os cultivos fetos com os extratos de *E. prostrata* contribuíram positivamente para a formação osteoblástica óssea (LIN *et al.*, 2010). Kim *et al.* (2013) identificaram que o heptadecano possui a capacidade de reduzir efeitos inflamatórios causados em tecidos renais ocasionados pela ação do stress oxidativo relacionado ao envelhecimento em ratos Fisher 344 idosos. Além disso, a capacidade anti-inflamatória do heptadecano também foi observada em cultivos in-vitro de células endoteliais YPEN-1 e tecidos renais envelhecidos, constatando uma potente atividade anti-inflamatória deste composto.

O ácido hexadecanóico, também é chamado de ácido palmítico devido ser o principal constituinte do óleo de palma (*Elaeis guineenses*). Possui um alto potencial comercial e suas atividades biológicas são tema recente de diversos estudos (LAI; TAN; AKOH, 2012). Chhouk *et al.* (2018) destacam as atividades antioxidantes, hipocolesterêmica, nematocida, pesticida antiandrogênica e hemolítica do ácido palmítico. Bharath *et al.* (2021) relataram atividade anticancerígena do ácido hexadecanóico ao observarem a apoptose em 77,83% de células de câncer de cólon HT-29 cultivadas na presença do ácido graxo isolado da alga marrom *Turbinaria ornata*. Os autores sugerem o uso da substância como uma alternativa natural para o desenvolvimento de medicamentos para o tratamento de câncer.

Jamuna, Paulsamy (2013) avaliaram a composição do extrato metanólico das raízes de *Hypochaeris radicata* L. utilizando GC-MS e identificaram o acetato de fitol como composto majoritário, correspondendo a uma área relativa do pico de 19,22%. Os autores relatam que este composto, derivado do fitol, possui ação antitubercular. Numa concentração de 500 µg/mL de acetato de fitol foi observada atividade antimicrobiana para o *Mycobacterium tuberculosis*, comprovado com o ensaio de suscetibilidade radiométrica BATEC460.

A Figura 23 a seguir mostra de forma comparada os compostos em comum identificados nos processos de extração das folhas de *ora-pro-nobis* estudados neste trabalho.

Figura 23 – Comparação dos compostos identificados em comum nos extratos de *Pereskia aculeata* Mill. obtidos por diferentes técnicas de extração



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

De acordo com a Figura 22, com exceção da técnica de ultrassom/etanol, o palmitato de metila foi identificado em ambas técnicas de extração, sendo assim pode-se notar que não há nenhuma substância identificada que esteve presente em ambos os processos de extração estudados. Isso pode ocorrer devido às diferenças das condições em que os processos foram conduzidos, que favoreceram a extração de um composto em detrimento de outros.

Os processos de extração supercrítica e hidrodestilação apresentaram, de maneira geral, maiores áreas relativas dos compostos extraídos, mostrando uma alta seletividade nos processos. Apesar da extração por hidrodestilação ter apresentado boa seletividade seu rendimento foi o menor encontrado neste estudo, e somado com o longo tempo de extração este se torna menos atrativo para aplicações industriais e/ou comerciais. Por mais que o processo de extração supercrítica não tenha

apresentado os maiores rendimentos encontrados neste estudo, sua alta seletividade e maior capacidade em solubilizar substâncias mostra uma vantagem no uso desta técnica em relação às demais.

5.5 Atividade antioxidante dos extratos de *Ora-Pro-nobis*

Os resultados atividade antioxidante dos extratos etanólicos obtidos dos processos de soxhlet, ultrassom e EFS (nas condições de maior rendimento – 140 bar, 50°C e 20% Cs; 170 bar, 60°C e 15% Cs) feita pelo método de redução do radical DPPH estão dispostas na Tabela 22 a seguir em termos de EC₅₀, conforme discutido anteriormente no item 4.7. As letras iguais apresentadas na coluna de atividade antioxidante representam que não há diferença estatística de acordo com o teste de Tukey ($p > 0,05$).

Tabela 22 – Atividade antioxidante dos extratos etanólicos obtidos por diferentes técnicas de extração

Técnica de extração	Atividade antioxidante (EC ₅₀ : µg/mL)
Soxhlet	242,7 ^a ± 12,65
Ultrassom	367,2 ^b ± 5,34
EFS – 140 bar, 50 °C e 20% Cs	274,05 ^a ± 4,81
EFS – 170 bar, 60 °C e 15% Cs	315,51 ^c ± 25,03

Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

De acordo com os dados expostos na Tabela 22 acima, pode-se notar que as técnicas de Soxhlet e EFS nas condições de 140 bar, 50°C e 20% Cs apresentaram maiores atividades antioxidantes, tendo seus valores de EC₅₀ não se diferenciando estatisticamente entre si de acordo com o teste de Tukey. De maneira geral, diversos autores relataram maiores índices de EC₅₀ dos extratos vegetais Soxhlet em relação às demais outras técnicas utilizadas (LAURENTINO, 2020; TRAMONTIN *et al.*, 2019).

Isto pode ser explicado pelo uso do etanol como solvente, combinado com o alto tempo de extração demandado pelo processo soxhlet, criando condições

propícias para uma maior extração de compostos polares, o que leva altas atividades antioxidantes observadas pelo método de redução do radical DPPH. Contudo, neste trabalho também foi observado que a técnica de CO₂ supercrítico (140 bar, 50 °C e 20% Cs) forneceu uma atividade antioxidante estatisticamente semelhante ao processo soxhlet, devido ao fato de se utilizar uma quantidade superior de cossolvente (20% etanol) no processo de extração. De acordo com os dados expostos no item 5.4.4, estas condições de extração promoveram uma maior solubilização de compostos, que por sua vez, contribuem para os altos valores de atividade antioxidante observados neste trabalho.

Pode-se observar que a adição de etanol como cossolvente ao processo de extração supercrítica das folhas de *Pereskia aculeata* Mill. favoreceu o aumento da atividade antioxidante dos extratos. Torres *et al.* (2022a) observaram uma atividade antioxidante de EC₅₀ 1000 µg/mL quando comparado aos valores obtidos neste trabalho, EC₅₀ 274,05 µg/mL. Além disso, Torres *et al.* (2022b, 2022c) ao utilizarem solventes polares nas técnicas extração sequenciais de baixas e altas pressões de folhas de ora-pro-nobis obtiverem maiores valores de atividade antioxidante quando comparado com o uso de solventes apolares, incluindo os valores obtidos neste trabalho. Isto pode ser explicado, considerando que os compostos antioxidantes possuem maior solubilidade em solventes polares conforme destaca Ferro *et al.* (2019), além do que, técnicas de extração sequenciais promovem uma maior remoção de compostos, potencialmente influenciando no maior resultado da atividade antioxidante dos extratos.

Não foram encontrados na literatura trabalhos nos quais foram obtidas as atividades antioxidantes de extratos das folhas de *P. aculeata* Mill. utilizando a técnica de ultrassom para fins de comparação.

Diversos autores estudaram a atividade antioxidante de extratos das folhas de ora-pro-nobis obtidos pelo método de redução do radical DPPH. Os valores observados não são homogêneos pois as técnicas de extração, solventes e condições de cultivo e preparo das amostras das folhas de ora-pro-nobis possui influência na atividade antioxidante calculada. Utilizando um extrato composto por 70% etanol e 30% água Garcia *et al.* (2019) obtiveram EC₅₀ 72,9 µg/mL. Os extratos metanólicos obtidos por Souza *et al.* (2016) apresentaram um valor de EC₅₀ de 7090 µg/mL.

Tehnnepohl (2016) aferiu a atividade antioxidante nos extratos obtidos por diferentes composições de solvente, obtendo a maior atividade antioxidante para o extrato alcoólico contendo fração de acetato de etila de 25,29 µg/mL e uma menor atividade para o extrato preparado com acetona seguida da extração de hexano, 389,16 µg/mL. Estes dados apontam a capacidade destes solventes em solubilizar as substâncias polares das folhas de *Pereskia aculeata*, contribuindo de forma positiva no incremento da atividade antioxidante dos extratos.

De acordo com Oliveira (2015) apenas uma técnica de determinação de atividade antioxidante não é suficiente para estudar-se a totalidade da real capacidade antioxidante de um extrato vegetal, sendo necessária a execução de outros procedimentos que contemplem a atividade antioxidante de moléculas de diferentes polaridades, tais como a utilização do sistema β-caroteno/ácido linoléico, FRAP (Ferring-reducing ability of plasma), ORAC (Oxigen radical absorbance capacity), ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) e TRAP (Total radical – trapping antioxidant parameter), por exemplo.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, foi possível observar como as diferentes técnicas e condições experimentais influenciaram no rendimento dos processos de extração e na composição dos extratos de ora-pro-nobis.

O óleo essencial obtido com a técnica de extração por hidroddestilação obteve um rendimento de 0,024%, típico para obtenção de óleo essencial de ora-pro-nobis, tendo o Linonelato de etila (31,86%), o Palmitato de etila (20,22%) e o Palmitato de metila (17,25%), como compostos majoritários.

Em relação às técnicas de extração a baixa pressão, constatou-se maiores rendimentos quando se utilizou o etanol como solvente nesses processos. Encontrou-se um rendimento global de 9,71% para a técnica de soxhlet quando se utilizou o solvente polar, enquanto se obteve 1,58% de rendimento ao utilizar-se o hexano como solvente para a mesma técnica. Por meio das metodologias de GC-MS estudadas não foram encontrados compostos identificáveis com essa técnica, no entanto, quando se utilizou o hexano como solvente, foi identificada uma grande quantidade de substâncias, devido a sua baixa especificidade, tendo como compostos majoritários identificados o Ascaridiol, Palmitato de metila, 3-metil-2-ciclopentanona e 2,3-dimetil-1,4-pentadieno.

A técnica de extração por ultrassom não apresentou diferença estatisticamente significativa ao se utilizar solventes e diferentes polaridades. Os rendimentos obtidos foram 3,01% e 2,71% para os solventes etanol e hexano. Foi possível identificar que a utilização do etanol como solvente neste processo favoreceu a extração de hidrocarbonetos de cadeia longa, tendo o 2-tetradeceno, 1-hexadeceno e o 1-dodeceno como compostos de maior área relativa. Para o uso do solvente de menor polaridade, foi observada a presença do Ascaridol, palmitato de metila, 3-metil-2-ciclopenten-1-ona e 1,2,3-trimetilbenzeno como compostos majoritários.

Quanto as extrações utilizando o CO₂ em estado supercrítico, pode-se observar que a presença do etanol como cossolvente exerceu influência direta no rendimento do processo, proporcionando um aumento relativo no rendimento de cerca de 4,29 vezes quando comparado a condição de 170 bar e 60°C e sem cossolvente com a adição de 15% de etanol nestas mesmas condições. Isso pode ser verificado uma vez

que o maior rendimento obtido foi observado na condição de 140 bar, 50° e 20% de cossolvente..

Pode-se constatar que a técnica de extração supercrítica utilizando etanol como cossolvente apresentou uma maior seletividade, uma vez que, em ambas as situações analisadas, o composto majoritário identificado foi o fitol. Este composto foi encontrado nas outras técnicas estudadas, entretanto apresentou menor área relativa na análise GC-MS. Foi possível identificar que maiores condições de pressão e temperatura proporcionaram maior seletividade do componente Fitol nos extratos supercríticos analisados. Além disso, o composto palmitato de etila foi identificado em quantidade significativa em ambas as condições de extração estudadas.

A curva cinética de extração supercrítica das folhas de *Pereskia aculeata Mill.* exibiu um comportamento típico das curvas de extração com o gás carbônico em estado supercrítico, apresentando cerca de 50% da massa total extraída nos primeiros 20 minutos do processo estudado. Tais resultados apontam para futuras aplicação de modelos de matemáticos de modelagem cinética, com o intuito se aperfeiçoar o entendimento dos mecanismos do processo.

Os compostos majoritários obtidos em ambas as técnicas de extração apresentaram, de maneira geral, atividades biológicas relevantes, corroborando para a aplicação dos extratos obtidos e aplicações biomédicas, farmacológicas e/ou cosméticas, revelando grande potencial técnico, econômico e industrial dos extratos das folhas de ora-pro-nobis.

Foi possível observar que os extratos etanólicos promoveram uma atividade antioxidante considerável, comprovadas pela metodologia de redução do radical DPPH. As técnicas de soxhlet e extração por fluido supercrítico nas condições de 140 bar, 50 °C e 20% de cossolvente apresentaram maiores atividades, uma vez que o etanol apresentou uma maior capacidade de solubilização dos compostos presentes nas folhas de *P. aculeata Mill.* Todavia, é necessário estudar outras técnicas de determinação da atividade antioxidante a fim de se obter uma totalidade da capacidade exercida pelos extratos, uma vez que a técnica estudada (redução do radical DPPH) contempla apenas a atividade antioxidante de moléculas polares.

Até a data de conclusão deste trabalho, não foram identificados trabalhos de extração das substâncias presentes nas folhas de ora-pro-nobis utilizando a técnica

de ultrassom. Ainda que este processo não apresentou os maiores rendimentos observados, o curto tempo de extração, facilidade de operação e boa capacidade de solubilização dos compostos independente do solvente utilizado, mostram esta técnica possui grande relevância para futuros estudos e aplicações científicas e industriais.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos, apresenta-se as seguintes sugestões para trabalhos futuros:

- a) Aferir a atividade antioxidante por outras técnicas, tais como ABTS, FRAP, ORAP e β -caroteno/ácido oléico;
- b) Estimar a quantidade de ceras presentes nos extratos;
- c) Estudar técnicas de separação/isolamento do fitol obtido com a extração supercrítica;
- d) Avaliar a composição dos extratos utilizando outras técnicas de cromatografia em estado líquido, tais como HPLC, UPLC e/ou LC-MS;
- e) Verificar a atividade antitumoral dos extratos supercríticos obtidos com adição de cossolvente bem como os obtidos pela técnica de ultrassom.

REFERÊNCIAS

ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. ed.4.1 [S.L]: Balor University, 2017.

AGOSTINI-COSTA, Tânia da Silveira. Bioactive compounds and health benefits of some palm species traditionally used in Africa and the Americas – A review. **Journal of ethnopharmacology**. v. 224. p. 202 – 229. mai. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.05.035>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037887411733893X?via%3Dihub>. Acesso em 07 de ago. 2020.

AGOSTINI-COSTA, Tânia da Silveira *et al.* Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae – *Pereskia sp.* **Journal of functional foods**. v. 11. p. 178 – 184. nov. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.09.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464614002990>. Acesso em 12 ago. 2020.

ALBUQUERQUE, Ulisses Paulino de. Referencias para o estudo da etnobotânica dos descendentes culturais do africano no Brasil. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v. 18. n. 04. p. 299 – 306. mai. 1999. Disponível em: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7057>. Acesso em 07 ago. 2020.

ALMEIDA, Mara Zélia. Plantas Medicinais: 3. ed. Salvador: Editora EDUFBA, 2011. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/xf7vy/pdf/almeida-9788523212162.pdf>. Acesso em 07 de ago. 2020.

ALMEIDA, Martha Elisa Ferreira; JUNQUEIRA, Allana Maria Bernardes; SIMÃO, Anderson Assaid; CORRÊA, Angelita Duarte. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nobis. **Bioscience Journal**. v. 30, n. 1, p. 431 – 439. fev. 2014. Disponível em : <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/17555/14557>. Acesso em 24 de março de 2021.

ATKINS, P. K. Físico-Química – Fundamentos, 3. Ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2003.

AYESELİ, Mehmet Turan; KELEBEK, Hasim; SELLI, Serkan. Elucidation of aromatic compounds and chlorogenic acids of Turkish coffee brewed from medium and dark roasted *Coffea arabica* beans. **Food Chemistry**. v.338. n. 15. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127821>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814620316836?via%3Dihub>. Acesso em out. 2021.

BENELI, Patrícia. AGREGAÇÃO DE VALOR AO BAGAÇO DE LARANJA (*CITRUS SINENSIS* L. OSBECK) MEDIANTE OBTENÇÃO DE EXTRATOS BIOATIVOS

ATRAVÉS DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO. Dissertação (Mestra em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

BHARATH, Boobalan *et al.* Evaluation of the anticancer potential of Hexadecanoic acid from brown algae *Turbinaria ornata* on HT–29 colon cancer cells. **Journal of Molecular Structure** V. 1235. N. 5. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130229>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022286021003604>. Acesso em nov. 2021.

BOUAZZI, S. *et al.* Cytotoxic and antiviral activities of the essential oils from Tunisian Fern, *Osmunda regalis*. *South African Journal of Botany*. v. 118. p. 52 – 57. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.06.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629918309761>. Acesso em nov. 2021.

BRASIL, Ministério da Educação. Capes. **Periódicos Capes**, 2022. Busca de periódicos científicos. Disponível em: <https://www-periodicos-capes-gov-br.ezl.periodicos.capes.gov.br/>. Acesso em 22 mar. 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Política e programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, DF: SPR, 2016. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_programa_nacional_plantas_medicinais_fitoterapicos.pdf. Acesso em 07 de ago. 2020.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Manual de hortaliças Não-convencionais**. Brasília, DF. MAPA/ACS, 2010. Disponível em: http://www.abcsem.com.br/docs/manual_hortalicas_web.pdf. Acesso em 23 de abril de 2021.

BRUNNER, G. Gas extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes. New York: Springer, 1994.

BRUNO, Siewe Fabrice *et al.* Green and innovative techniques for recovery of valuable compounds from seafood by-products and discards: A review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 85. p. 10 – 22. mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.12.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418304473>. Acesso em 19 de ago. 2020.

BU, Chun-ya *et al.* Acaricidal Activity of Ethyl Palmitate against *Tetranychus cinnabarinus*. Berlin. ed. Springer. 2012.

CAMPOS, Jasmine Alves *et al.* Brotação De Ora-Pro-Nóbis Em Substrato Alternativo De Casca De Arroz Carbonizada. **Holos**, v. 7, p. 148, 2017. DOI:

10.15628/holos.2017.6424. Disponível em:

<https://www2.ifrn.edu.br/ojs/index.php/HOLOS/article/view/6424>. Acesso em 22 jul. 2021.

CASTRO, M. D. Luque de; PERIGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**. v. 1217. n. 16. p. 2383 – 2389. abr. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967309016884>. Acesso em 12 de ago. 2020.

CARVALHO, Eber Goulart *et al.* Wound healing properties and mucilage content of *Pereskia aculeata* from different substrates. **Revista brasileira de farmacognosia**. v.24. n. 6. p. 677 – 682. dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.11.008>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2014000600677. Acesso em 23 ago. 2020.

CHHOUK, Kimthet *et al.* Efficacy of supercritical carbon dioxide integrated hydrothermal extraction of Khmer medicinal plants with potential pharmaceutical activit. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. V.6. n.2 .p. 2944 – 2956. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.04.036>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213343718302185>. Acesso em dez. 2021.

COSTA, J. P. *et al.* Anticonvulsant effect of phytol in a pilocarpine model in mice. **Neurosci Lett**. v. 523. n. 2. p. 115 – 118. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.06.055>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394012008634?via%3Dihub>. Acesso em nov. 2021.

CREPALDI, Maria Otávia Silva; PEIXOTO, Ariane Luna. Use and knowledge of plants by “Quilombolas” as subsidies for conservation efforts in an area of Atlantic Forest in Espírito Santo State, Brazil. **Biodiversity and Conservation**. v. 19. p. 37 – 60. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9700-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10531-009-9700-9#citeas>. Acesso em 07 de ago. 2020.

CRUZ, Pollyana Nogueira da. POTENCIAL ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANO DOS EXTRATOS OBTIDOS DA SEMENTE DE BUTIÁ DA PRAIA (*Butia catarinensis*). Dissertação (Mestra em Engenharia de alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

DA SILVA, Rui P.F.F.; ROCHA-SANTOS, Teresa A.P.; DUARTE, Armando C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.013>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993615300625>. Acesso em 12 ago. 2021.

DE ALENCAR, Marcus Vinicius Oliveira Barros *et al.* Phytol as an Anticarcinogenic and Antitumoral Agent: An in vivo Study in Swiss Mice with DMBA-Induced Breast Cancer. *Research Communication*. v.9999. n.9999. p. 1 – 13. 2018. DOI: DOI 10.1002/iub.1952.

DE ALMEIDA, Martha Elisa Ferreira; CORRÊA, Angelita Duarte. Utilização de cactáceas do gênero pereskia na alimentação humana em um município de minas gerais. **Ciencia Rural**, v. 42, n. 4, p. 751–756, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000400029>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/rLppTDpRG5drzknZ6Kb5Tkc/?lang=pt>. Acesso em 02 jun. 2021.

DEGENHAEDT, Rute T. *et al.* Characterization and evaluation of the cytotoxic potential of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 26. p. 56 – 51. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.012>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1016/j.bjp.2015.08.012>. Acesso em nov. 2021.

DHANARASU, Sasikumar (org). **Chromatography and its applications**. Rijeka: Intech, 2012. Disponível em: <https://library.um.edu.mo/ebooks/b28050630.pdf>. Acesso em 05.mai.2021.

DUARTE, M.R.; HAYASHI S. S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 15. n. 2. p. 103 – 109. Junho de 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000200006>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/nCr3BQVCrqqqW6TxsKP7t3Q/?lang=pt>. Acesso em 08 de nov. 2020.

EDWARDS, Erika J.; DONOGHUE, Michael J. *Pereskia* and the origin of the cactus life-form. **American Naturalist**, v. 167, n. 6, p. 777–793, 2006. Disponível em: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/504605>. Acesso em 13 jul. 2021.

EDWARDS, Erika J.; NYFFELER, Reto; DONOGHUE, Michael J. Basal cactus phylogeny: Implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 7, p. 1177–1188, 2005. DOI: 10.3732/ajb.92.7.1177. Disponível em: <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3732/ajb.92.7.1177>. Acesso em 12 jul. 2021.

EKINCI, Mustafa Serhat; GÜRÜ, Metin. Extraction of phytosterols from melon (*Cucumis melo*) seeds by supercritical CO₂ as a clean technology. **Green Process Synth**, v. 8, p. 677–682, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1515/gps-2019-0038>. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/gps-2019-0038/html>. Acesso em 27 mai. 2021.

ELSEVIER. **Science Direct**, 2022. Busca de periódicos científicos. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/>. Acesso em 22 mar. 2022.

ESQUIVEL-FERRIÑO, Patrícia C. *et al.* Antimycobacterial activity of constituents from *Foeniculum vulgare* var. dulce grown in Mexico. **Molecules**. v. 17. n. 7. p. 8471 – 8482. 2012. DOI: 10.3390/molecules17078471. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/17/7/8471>. Acesso em mai. 2021.

ESSEIN, Sinemobong O.; YOUNG, Brent; SAEID, Baroutian. Recent advances in subcritical water and supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from plant materials. **Trends in Food Science & Technology**. v. 97. p. 156 – 169. mar. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224419301116>. Acesso em 20 de ago. 2020.

ESTRADA-CASTILLO, Sandra *et al.* Las especies de *Pereskia* (Pereskioideae, Cactaceae) en Colombia. **Caldasia**. v. 41. n. 42. p. 289 – 300. Jun. 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.15446/caldasia.v41n2.67382>. Disponível em: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/cal>. Acesso em mar. 2020.

FARAGO, P. V. *et al.* Análise morfo-anatômica de folhas de *Pereskia grandifolia* Haw, Cactaceae. **Acta Farm. Bonaerense**. v. 23. n. 3. p. 323 – 327. 2004. Disponível em: http://www.latamjpharm.org/trabajos/23/3/LAJOP_23_3_1_8_7G0EKC07R0.pdf. Acesso em mar 2021.

FARÍAS-CAMPOMANES, Angela M.; ROSTAGNO, Mauricio A.; MEIRELES, M. Angela A. Production of polyphenol extracts from grape bagasse using supercritical fluids: Yield, extract composition and economic evaluation. **Journal of Supercritical Fluids**. [S.l.: s.n.]. , 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.02.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0896844613000673>. Acesso em 23 mai. 2021.

FERRO, Diego Márton *et al.* Integrated extraction approach to increase the recovery of antioxidant compounds from *Sida rhombifolia* leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*. v. 149. P. 10 – 19. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.03.013>.

FROHLICH, Paula Cassiana *et al.* OBTENÇÃO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE CRAVO DA ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) COM CO₂ SUPERCRÍTICO E ADIÇÃO DOS COSSOLVENTES ETANOL E ACETATO DE ETILA. **Revista ensaios pioneiros**. v. 2. n. 1. p. 20 – 31. 2018. DOI: <https://doi.org/10.24933/rep.v2i1.125>. Disponível em: <https://ensaiospioneiros.usf.edu.br/ensaios/article/view/125>. Acesso em dez. 2021.

GARCIA, Jéssica A. A. *et al.* Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**. v. 294. n.1. p. 302 – 308. out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.074>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814619308696>. Acesso em 11 ago. 2020.

GASPAR, Lúcia. Índios do Brasil: alimentação e culinária. **Pesquisa Escolar Online**, Fundação Joaquim Nabuco. Recife. Disponível em: <http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar/>. Acesso em 07 ago. 2020.

GOOGLE. **Google Acadêmico**, 2022. Busca de periódicos científicos. Disponível em: https://scholar.google.com.br/schhp?hl=pt-BR&as_sdt=0,5. Acesso em 22 mar. 2022.

GUIMARÃES, José Rodrigo de Araújo. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E COMPOSIÇÃO MINERAL DE *Pereskia aculeata* Mill., *Pereskia grandifolia* Haw. E *Pereskia bleo* (Kunth) DC. Tese (Doutor em Agronomia). Faculdade de ciências agrônômicas da Unesp. Botucatu, 2018.

GÜNEŞ, Fatma Esra. Medical Use of Squalene as a Natural Antioxidant. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*. v. 3. n. 4. p. 220 – 228. 2013. DOI: 10.5455/musbed.20131213100404. Acesso em set. 2021.

HANDA, Sukhdev Swami *et al.* Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants: 1. ed. Trieste. Editora: International Centre for Science and High Technology. 2008.

HERRERO, Miguel; CIFUENTES, Alejandro; IBAÑEZ, Elena. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae - A review. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 136–148, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.058>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814605004772>. Acesso em: 28 ago. 2021.

HOSCHER, Renata Henrique. CINÉTICA DE SECAGEM E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Pereskia aculeata* Miller. Dissertação (Mestra em Engenharia agrícola) Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, 2019.

ITOH, Tomohiro *et al.* Phytol isolated from watermelon (*Citrullus lanatus*) sprouts induces cell death in human T-lymphoid cell line Jurkat cells via S-phase cell cycle arrest. **Food and Chemical Toxicology**. v. 115. P. 425 – 435. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.03.033>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691518301820?via%3Dihub>. Acesso em des. 2021.

JAMUNA, S.; PAULSAMY, S. Gc-ms analysis for bioactive compounds in the methanolic leaf and root extracts of *hypochaeris radicata* L. (asteraceae). **International Journal of Current Research**. V.5. n. 12. P. 4070 – 4074. 2013. Disponível em: <https://www.journalcra.com/article/gc-ms-analysis-bioactive->

compounds-methanolic-leaf-and-root-extracts-hypochoeris-radicata-l. Acesso em dez. 2021.

KIM, Chul-Woo *et al.* Activation of Caspase-9/3 and Inhibition of Epithelial Mesenchymal Transition are Critically Involved in Antitumor Effect of Phytol in Hepatocellular Carcinoma Cells. **Phytotherapy Research**. V. 29. N. 7. P. 1026 – 1031. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.5342>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.5342>. Acesso em dez. 2021.

KIM, Dae Hyun *et al.* Molecular Study of Dietary Heptadecane for the Anti-Inflammatory Modulation of NF- κ B in the Aged Kidney. **Plos One**. V.8. n 3. 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0059316. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3608635/>. Acesso em dez. 2021.

KRISHNAIAH, Duduku; SARBATLY, Rosalam; NITHYANANDAM, Rajesh. A Review of the antioxidante potential of medicinal plant species. Food and Bioproduts Processing. v. 89. p. 217 – 233. DOI: 10.1016/j.fbp.2010.04.008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960308510000520>. Acesso em 23 mai. 2021.

LAI, Oi-Ming; TAN, Chin-Ping; AKOH, Cassimir C. (Ed). Palm oil: Production, Processing, Characterization and uses. AOCS, Urbana, 2012.

LATIEF, Madyawati *et al.* Anti-inflammatory activities of squalene compound of methanol extract of *Abroma augusta* L. **Jurnal Teknologi Laboratorium**. v. 9. n. 2. p. 176 – 185. 2020. DOI: 10.29238/teknolabjournal.v9i2.228. Disponível em: <https://www.teknolabjournal.com/index.php/Jtl/article/view/228>. Acesso em dez. 2021.

LAURENTINO, Thuany Nayara Silva. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EXTRATO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE PALO SANTO (*Bursera graveolens*) PARA APLICAÇÃO EM PRODUTOS INSETICIDAS. Dissertação (Mestra em Engenharia Química). Univerisidade Federal de Santa Catarina, 2017.

LAURENTINO, Thaíris Karoline Silva. AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA FOLHA E CAULE DA CANA DO BREJO (*Costus spicatus*) POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO. Dissertação (Mestra em engenharia química) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2020.

LEUENBERGER, Beat Ernest. Pereskia, Maihuenia and Blossfeldia – Taxonomic History, Updates and notes. **Haseltonia**. v.14. p. 54 – 93. 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.2985/1070-0048-14.1.54>. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/full/10.2985/1070-0048-14.1.54>. Acesso em ago. 2020.

LIMA JUNIOR, Fausto Alves de. DESENVOLVIMENTO DE PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE HIDROCOLOIDES DO ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller). Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de

Lavras, 2011. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/9413>. Acesso em jun. 2020.

LIMA, R. S.; FERREIRA, S. R. S.; VITALI, L. BLOCK, J. M. May the superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional food. **Food Research international**. v. 115, p. 452-459, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.053>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918308457>. Acesso em 15 out. 2021.

LIN, Xiong-Hao *et al.* Effects of Volatile Components and Ethanolic Extract from *Eclipta prostrata* on Proliferation and Differentiation of Primary Osteoblasts. **Molecules**. v. 15. N. 1. P. 241 – 250. 2010. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules15010241>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/15/1/241>. Acesso em set. 2021.

LÓPEZ, Gabriela Cilia; CORTÉS, Raquel Cariño. Medicinal Plants, antioxidants and health. *The Journal of Toxicology and Health*. v.103. p. 257 – 265. 2013. Disponível em: <https://sites.google.com/site/photonfoundationorganization/home/the-journal-of-toxicology-and-health>. Acesso em 11 mai. 2021.

LOZANO-GRANDE, M. Azalia *et al.* Plant Sources, Extraction Methods, and Uses of Squalene. **International Journal of Agronomy**. v. 2018. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/1829160>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ija/2018/1829160/>. Acesso em dez. 2021.

MACIEL, V. B. V.; YOSHIDA, C. M. P.; GOYCOOLEA, F. M. Agronomic Cultivation, Chemical Composition, Functional Activities and Applications of *Pereskia* Species – A Mini Review. **Current Medicinal Chemistry**. v. 26. p. 4573 – 4584. 2019. DOI: 10.2174/0929867325666180926151615. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30259803/>. Acesso em jan. 2021.

MARKON, Masturah *et al.* Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**. v. 2. n. 3. p. 487 – 496. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.06.003>. Acesso em jan. 2021.

MARTÍNEZ, Julian. Extração de Óleos Voláteis e Outros Compostos com CO₂ Supercrítico: **Desenvolvimento de uma Metodologia de Aumento de Escala a partir da Modelagem Matemática do Processo e Avaliação dos Extratos Obtidos**. Tese (Doutor em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2005. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/254925>. Acesso em 25 jul. 2021.

MENSOR, L. L. *et al.* Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytoter Res**. v. 15. n. 2. p. 127 – 130. 2001. DOI: 10.1002/ptr.687. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.687>. Acesso em 01 set. 2021.

MERGAREJO NETTO, Marcos. Ora-Pro-Nóbis em Poméu: gastronomia na Serra de Sabará/MG. **Geograficidade**, v. 4, n. 1, p. 36–46, 2014. DOI: <https://doi.org/10.22409/geograficidade2014.40.a12909>. Disponível em: <https://periodicos.uff.br/geograficidade/article/view/12909>. Acesso em 13 jun. 2021.

MICHIELIN, Eliane M. Z. *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**. v. 100. n. 24. p. 6615 – 6623. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.061>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852409009547?via%3Dihub>. Acesso em jul. 2021.

MŁYNARCZYK, Karolina; WALKOWIAK-TOMCZAK, Dorota; ŁYSIAK, Grzegorz P. Bioactive properties of *Sambucus nigra* L. as a functional ingredient for food and pharmaceutical industry. **Journal of functional foods**. v. 40. p. 377 – 390. jan. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.025>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464617306977>. Acesso em 09 de ago. 2020.

MORAIS, Josué de *et al.* Phytol, a Diterpene Alcohol from Chlorophyll, as a Drug against Neglected Tropical Disease Schistosomiasis Mansonii. **Plos Neglect Tropical Disease**. v.8. n. 1. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002617>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0002617>. Acesso em dez. 2021.

MOUAHID, Adil; DUFOUR, Cyril; BADENS, Elisabeth. Supercritical CO₂ extraction from endemic Corsican plants; Comparison of oil composition and extraction yield with hydrodistillation method. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 20, n. July 2016, p. 263–273, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2017.06.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212982016301792>. Acesso em 29 jun. 2021.

NIST. LINSTROM, P. J.; MALLARD W. G.; Eds., NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, 2011. DOI: <https://doi.org/10.18434/T4D303>. Acesso em 22 jul. 2021.

OJHA, K. Shikha *et al.* Ultrasound technology for extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. **Trends in analytical chemistry**. v. 122. n. 115663. set. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115663>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993619301281>. Acesso em 14 ago. 2020.

OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas medicinais*. V.17. n. 1. P. 45 – 50. 2015. DOI: 10.1590/1983-084X/12_165.

PATERSON, Iain D.; DOWNIE, Douglas A.; HILL, Martin P. Using molecular methods to determine the origin of weed populations of *Pereskia aculeata* in South Africa and its relevance to biological control. **Biological Control**, v. 48, n. 1, p. 84–91, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.09.012>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964408002533>. Acesso em 24 jun. 2021.

PEJIN, B. *et al.* Further in vitro evaluation of antiradical and antimicrobial activities of phytol. **Nat Prod Res**. v. 28. n. 6. p. 372 – 376. 2014. DOI: 10.1080/14786419.2013.869692. Acesso em nov. 2021.

PERESKIA ACULEATA. In: PLANTS of the world online. [S.l.]: Royal Botanic Gardens, [2020?]. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:137452-1#source-KBD>. Acesso em: 23 abr. 2020.

PETERSEN, Helena de Souza. PROJETO DE ENGENHARIA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DE CAFEÍNA A PARTIR DA ERVA MATE. Dissertação (Mestra em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2017. Disponível em: <http://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/7472#preview-link0>. Acesso em 31. mai. 2021.

PIMENTEL, Flávio A. *et al.* Extracts from the leaves of *Piper piscatorum* (Trel. Yunc.) obtained by supercritical extraction of with CO₂, employing ethanol and methanol as co-solvents. **Industrial Crops and Products**. v. 43. p. 450 – 495. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.067>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012004451>. Acesso em dez. 2021.

PINTO, Nicolas de Castro Campos *et al.* *Pereskia aculeata*: **A plant food with antinociceptive activity**. *Pharmaceutical Biology*. [SL]. v.53. n.12. p. 1780 – 1785.[S.L]. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1008144>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880209.2015.1008144>. Acesso em: 03. abr. 2021.

PINTO, Nicolas Castro Campos *et al.* *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatites. **Journal of ethnopharmacology**. v. 173. p. 330 – 337. set. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.07.032>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874115300490>. Acesso em 14 ago. 2020

REN, Dezhang *et al.* Production of 2,5-hexanedione and 3-methyl-2-cyclopenten-1-one from 5-hydroxymethylfurfural. **Green Chemistry**. v. 18. p.3075 – 3081. 2016. DOI: 10.1039/c5gc02493e. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/gc/c5gc02493e>. Acesso em dez. 2021.

RIBEIRO, A. A. B. *et al.* in silico evaluation of the anti-inflammatory activity of Ascaridol monoterpene. **RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT**. v.9. n 7. 2020. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4517>. Acesso em nov. 2021.

RODRIGUES, A. S. *et al.* Effect of meteorological conditions on antioxidant flavonoids in Portuguese cultivars of white and red onions. **Food Chemistry**. v. 124. n. 1. p. 303 – 308. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.037>. Acesso em out. 2021.

ROLEIRA, F. M. F.; TAVARES-DA-SILVA, E. J.; VARELA, C. L.; COSTA, C. S.; SILVA, T.; GARRIDO, J.; BORGES, F. Plant derived and dietary phenolic antioxidants: Anticancer properties. *Food Chemistry*. v. 183. p. 235 – 258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.039>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814615004021>. Acesso em 23. jun.2021.

ROSA, Sônia Maciel da; SOUZA, Luiz Antônio de. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. Maringá. v. 25. n. 2. p. 415 – 428. 2003. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v25i2.2046>. Disponível em: <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/2046>. Acesso em nov. 2020.

SANTOS, A. B.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – EMBRAPA. Comunicado técnico, n. 99, ISSN 1517-2244, Bélem, 2004. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcGClcfindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.infoteca.cnptia.embrapa.br%2Fbitstream%2Fdoc%2F402448%2F1%2Fcom.tec.99.pdf&clen=213248>. Acesso em 23 de jul. 2021.

SANTOS, Aline Queirós; SANTOS, Regineide Xavier; MARISCO, Gabriele. Atividades biológicas, toxicológicas e parâmetros nutricionais da *Pereskia aculeata* Miller: uma revisão bibliográfica. **Scientia Amazonia**. v. 7. n. 2. p. CB1 – CB16. 2018. Disponível em: <http://scientia-amazonia.org/wp-content/uploads/2018/08/v7-n3-cb1-cb16-2018.pdf>. Acesso em 10 ago. 2020.

SANTOS, Lucélia Fátima. ASPECTOS FITOTÉCNICOS, BROMATOLÓGICOS E COMPONENTES BIOATIVOS DE *Pereskia aculeata*, *Pereskia grandifolia* e *Anredera cordifolia*. Tese (Doutora em Fitotecnia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

SARTOR, Claudenice Francisca Providelo *et al.* Estudo da ação cicatrizante das folhas de *Pereskia aculeata*. **Revista saúde e pesquisa**. v.3. n. 2. p 149 – 154. ago. 2010.

SAEED, Noha M. *et al.* Anti-inflammatory activity of methyl palmitate and ethyl palmitate in different experimental rat models. *Toxicology and Applied Pharmacology*. v. 264. n. 1. p. 84 – 93. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2012.07.020>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X12003213?via%3Dihub>. Acesso em nov. 2021.

SHAABAM, Mohamed T.; GHALY, Mohamed F.; FAHMI, Sara M. Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. **Journal of basic microbiology**. v. 61. n. 6. p. 557 – 568. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/jobm.202100061>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jobm.202100061>. Acesso em dez. 2021.

SHARIF, K.M. *et al.* Ethanol modified supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant rich extract from *Pereskia bleo*. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**. v. 21. P. 1314 – 1322. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.05.047>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226086X14002998>. Acesso em dez. 2021.

SIDDIQ, Muhhamad; UBERSAX, Mark A. (org). Handbook of vegetable processing. 2 ed. Hoboken. Editora Willey John Wiley & Sons. 2018. DOI: DOI:10.1002/9781119098935. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781119098935>. Acesso em 12 mar. 2021.

SILVA, Aline Priscilla Gomes da *et al.* Ripe Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata miller*) fruits express high contents of bioactive compounds and antioxidant capacity. **Revista brasileira de fruticultura**. v. 40. n. 3. 2018. DOI: DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018749>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/rbf/v40n3/0100-2945-rbf-40-3-e-749.pdf>. Acesso em 12 ago. 2020.

SILVA, Renan O. *et al.* Phytol, a diterpene alcohol, inhibits the inflammatory response by reducing cytokine production and oxidative stress. **Fundam Clin Pharmacol**. v. 28. n. 4. p. 455 – 464. 2014. DOI: 10.1111/fcp.12049. Acesso em set. 2021.

SILVEIRA, Melissa Guimarães. ENSAIO NUTRICIONAL DE *Pereskia* spp.: HORTALIÇA NÃO CONVENCIONAL. Tese (Doutora em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, 2015.

SIMÕES, C. M. O. *et al.*, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003.

SOUZA, Lucéia Fátima *et al.* *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 17. p. 1478. set. 2016. DOI:10.3390/ijms17091478. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27598154/>. Acesso em 20 ago. 2020.

SOUZA, Maria Regina de Miranda *et al.* Mineral, protein and nitrate contents in leaves of *Pereskia aculeata* subjected to nitrogen fertilization. **Pesquisa agropecuária tropical**. v. 46. n. 1. p. 43 – 50. mar. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4637959>. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/pat/v46n1/1517-6398-pat-46-01-0043.pdf>. Acesso em 12 de ago. 2020.

SOUZA, Thaís Cristina de Lima. “PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS EXTRAÍDOS DE FOLHAS DE ORA-PRO-NÓBIS (*PERESKIA ACULEATA* MILLER)”. Dissertação (Mestra em Ciência de alimentos). Faculdade de Engenharia de alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2014.

SPRINGER NATURE SWITZERLAND AG. Springer Link, 2022. Busca de periódicos científicos. Disponível em: <https://link.springer.com/>. Acesso em 22 mar. 2022.

TILOKE, Charlotte *et al.* Moringa oleifera and their phytonanoparticles: Potential antiproliferative agents against cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 108. p. 257 – 266. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.060>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332218327884?via%3Dihub>. Acesso em dez. 2021.

TORRES, Talyta Mayara Silva *et al.* Neuroprotective potential of extracts from leaves of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) recovered by clean compressed fluids. **Journal of supercritical fluids**. v.179. jan. 2022a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105390>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844621002321>. Acesso em 10 jan. 2022.

TORRES, Talyta Mayara Silva *et al.* High-pressure biorefining of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*). **Journal of supercritical fluids**. v. 181. 2022b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105514>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844621003569>. Acesso em 10 jan. 2022.

TORRES, Talyta Mayara Silva *et al.* Protein valorization from ora-pro-nobis leaves by compressed fluids biorefinery extractions. **Journal of supercritical fluids**. v. 76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.102926>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S146685642200011X>. Acesso em 10 jan. 2022.

TRAMONTIN, Deise Parolo *et al.* Biological activity and chemical profile of Brazilian jackfruit seed extracts obtained by supercritical CO₂ and low pressure techniques. *The Journal of Supercritical Fluids*. v. 152. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104551>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844619302001>. Acesso em dez. 2021.

TRENNEPOHL, Bruna Isadora. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE *Pereskia aculeata* Mill. Dissertação (Mestra em Alimentação e nutrição). Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2016.

TÝSKIEWICZ, Katarzyna; KONKOL, Marcin; RÓJ, Edward. The application of supercritical fluid extraction in phenolic compounds isolation from natural plant materials. *Molecules*, v. 23, n. 10, 2018. DOI: 10.3390/molecules23102625. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6222308/>. Acesso em 12 ago. 2021.

USA, U.S Department of Human and Helt Services, National Institute of Health. **PubMed**, 2022. Busca de periódicos científicos. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em 22 mar. 2022.

VALENTE, Lúgia, M. M. *et al.* Evaluation of the antitumor and trypanocidal activities and alkaloid profile in species of Brazilian *Cactaceae*. *Pharmacognosy Magazine*. v. 3. N. 11. p. 167 – 172. set. 2007. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Evaluation-of-the-antitumor-and-trypanocidal-and-in-Valente-Scheinvar/23570dd9aedf5b4e7069d306c5012a7b6d367290>. Acesso em 12 ago. 2020.

VERNÈS, Léa; VIAN, Maryline; CHEMAT, Farid. Ultrasound and Microwave as Green Tools for Solid-Liquid Extraction. *In*: POOLE, Colin (org). **Handbooks in Separation Science Liquid-Phase Extraction**. Amsterdam. Editora Elsevier, 2020. p. 355 – 374.

VIEIRA, Camila Ribeiro *et al.* Effect of *Pereskia aculeata* Mill. in vitro and in overweight humans: A randomized controlled trial. v. 43. n. 7. p. e12903. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12903>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jfbc.12903>. Acesso em 17 ago. 2020.

VIJAYAKUMAR, Ramisay (org); RAJA, Suresh (org). **Secondary Metabolites**. Londres. IntechOpen, 2018. DOI: 10.5772/intechopen.71955. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/secondary-metabolites-sources-and-applications>. Acesso em fev 2021.

VIZZOTO, Márcia; KROLOW, Ana Cristina Richter; UEBER, Gisele Eva Bruch. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. Empresa Brasileira de Agropecuária. Embrapa Clima Temperado. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Pelotas. 2010. Disponível em:

<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/886074>. Acesso em 15 jul. 2021.

VALKO, M.; DIETER, L.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International of Biochemistry & cell biology**. v. 39. n. 1. p. 44 – 84. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272506002196?via%3Dihub>. Acesso em 15. abr. 2021.

WANG, Y. N. *et al.* Methyl Palmitate, an Acaricidal Compound Occurring in Green Walnut Husk. **Journal of Economic Entomology**. v. 102. n. 1. p. 196 – 202. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1603/029.102.0128>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jee/article/102/1/196/2199112>. Acesso em dez. 2021.

YU, Tonghuan; NIU, Liyuan; IWAHASHI, Hitoshi. High-Pressure Carbon Dioxide Used for Pasteurization in Food Industry. **Food Engineering Reviews**, v. 12, n. 3, p. 364–380, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09240-1>. Acesso em 10 ago 2021.

ZHANG, Leilei *et al.* Profiling of polyphenols and sesquiterpenoids using different extraction methods in *Muscari turcicum*, an endemic plant from Turkey. **Industrial Crops and Products**, v. 154, n. May, 2020. DOI: doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112626. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669020305422>. Acesso em 19. mai. 2021.