



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC
CAMPUS FLORIANÓPOLIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS - PPGEAL

CAMILA MOTA MARTINS

Valorização de subprodutos de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) a partir de métodos de extração a alta pressão aplicados aos conceitos de biorrefinaria

Florianópolis

2022

CAMILA MOTA MARTINS

Valorização de subprodutos do processamento de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) a partir de métodos de extração a alta pressão aplicados aos conceitos de biorrefinaria

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

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

Coorientador: Dr. Edy Sousa de Brito

Florianópolis

2022

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

Martins, Camila Mota

Valorização de subprodutos do processamento de tamarindo (Tamarindus indica L.) a partir de métodos de extração a alta pressão aplicados aos conceitos de biorrefinaria / Camila Mota Martins ; orientadora, Sandra Regina Salvador Ferreira, coorientador, Edy Sousa de Brito, 2022.
181 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Tecnologias verdes a alta pressão. 3. Atividade antioxidante. 4. Compostos fenólicos. 5. Bioeconomia circular. I. Regina Salvador Ferreira, Sandra . II. Sousa de Brito, Edy . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Camila Mota Martins

VALORIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS DE TAMARINDO (*Tamarindus indica*
L.) A PARTIR DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO A ALTA PRESSÃO APLICADOS
AOS CONCEITOS DE BIORREFINARIA

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

Prof. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira - Presidente - UFSC

Dra. Morsyleide de Freitas Rosa - Membro externo - Embrapa Agroindústria

Tropical Prof. Dr. Cristiano José de Andrade - Membro externo - UFSC

Prof. Dr. Marcelo Lanza - Membro interno - UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de doutora em Engenharia de Alimentos.

Profa. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira
Coordenadora do Programa

Profa. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira
Orientadora

Florianópolis, 2022.

“Dedico este trabalho à minha família, que com muito amor me incentivou a nunca desistir”

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção e por sempre me mostrar os melhores caminhos a serem seguidos.

À minha família, por todo o apoio na jornada profissional. Em especial minha mãe Maria Francisca, exemplo de mulher forte, perseverante e que me inspira a seguir seus passos. Meu Pai Manoel, por acreditar que somos capazes de seguir em frente, mesmo nas adversidades. Meu irmão Felipe por ser um exemplo na carreira acadêmica, e sua família por sempre me receberem tão bem nos períodos em Fortaleza.

Ao meu amado noivo, Diego Ferro por ser luz em minha vida e porto seguro em todos os momentos. Obrigada por suas contribuições neste trabalho e por se fazer presente todos os dias. Deus te enviou para somar, e para juntos trilharmos essa jornada que é a vida, te amo.

À professora Sandra R. S. Ferreira por sua orientação e por me acolher em seu grupo de pesquisa, confiando em mim o desenvolvimento deste trabalho. Te levo como exemplo de mestre. Obrigada por seus ensinamentos e incentivo em conquistar novos horizontes.

À coorientação do Edy S. Brito, que desde o mestrado me acompanha, orienta e incentiva a pesquisar por novas oportunidades. Muito obrigada por vibrar comigo em cada pequena conquista.

Aos Ferro e De Prá por me acolherem como parte da família, e por estarem sempre em constante oração por todos nós. Especialmente aos meus sogros Jolcemar e Lizabete por serem um exemplo de garra. Obrigada por me receber e apoiar no período em que precisamos ficar em isolamento pandêmico. Ao meu cunhado Pedro, nosso futuro médico, pelo apoio e incentivo.

Aos amigos do LATESC pela convivência diária, por nossas trocas de conhecimento no café da tarde, e por tornarem o nosso ambiente de trabalho leve, descontraído e agradável. Levo desse ambiente amigos para a vida toda, vocês fazem parte de uma grande família.

A toda equipe técnica dos laboratórios da Embrapa Agroindústria Tropical, em especial LPA, Biomassa e LMQPN, os quais foram fundamentais para a realização deste trabalho. Agradeço a parceria e a atenção de Jhonyson Guedes e Kirley Canuto na realização das análises de identificação dos compostos.

Aos meus amigos Gringos, os quais tenho muito orgulho de ter ao meu lado. E as minhas amigas Fabi, Cleice, Nara e Larissa Melo, por se fazerem sempre presente.

Ao PPGEAL/UFSC e aos professores pelas contribuições e conhecimentos transmitidos. À CAPES pelo aporte financeiro. E a banca examinadora pela disponibilidade e contribuições.

A todos os meus familiares e amigos que vivenciaram comigo cada etapa da construção deste trabalho.

Obrigada!

RESUMO

O tamarindo (*Tamarindus indica* L.) é uma fruta muito consumida pelas características sensoriais de sua polpa. Seu subproduto industrial, composto por casca, fibra e semente, é rico em fitoquímicos, embora correspondam à 50-70% do fruto, são pouco explorados. O objetivo deste estudo foi o biorrefino de semente e casca+fibra de tamarindo para a recuperação de frações bioativas. Extração fluido supercrítico (SFE), líquido pressurizado (PLE), água subcrítica (SWE) e assistida por micro-ondas (MAE), foram avaliadas comparativamente aos métodos convencionais de Soxhlet (SOX) e agitação aquosa a quente (CHSE), envolvendo diferentes temperaturas e solventes (CO₂, etanol, água e etanol:água 50%). Os extratos foram avaliados em relação ao conteúdo fenólico total (TPC), a capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) e a caracterização química. A fração lipídica recuperada da semente por SFE (25 MPa e 60 °C), composta por 73 % de UFA (rica em ácidos linoleico e oleico), é uma promissora para aplicação alimentícia. A fração fenólica recuperada da semente em PLE (Etanol/ 60 °C/10 MPa) apresentou alto TPC (305,1 mg GAE·g⁻¹) e capacidade antioxidante, superior à dos outros solventes e ao extrato de SOX-etanol. Em relação a fração fenólica da casca+fibra, o uso de etanol aquoso a 100 °C combinado com PLE forneceu o extrato de maior TPC (201,6 ± 0,8 mg GAE·g⁻¹), e com MAE o extrato de maior capacidade antioxidante (943,1-1918,8 μmol TEAC·g⁻¹), resultados superiores aos de SOX-etanol. Polifenóis, flavonoides e ácidos orgânicos foram identificados na fração fenólica de semente e casca+fibra, com destaque para o ácido cítrico, ácido vanílico, rutina e orientina reportados pela primeira vez em casca de tamarindo. A presença dos antioxidantes nas frações fenólicas sugere o seu uso em formulações cosméticas e alimentícias, atuando no retardo da oxidação desses produtos. A fração polissacarídica da semente com maior conteúdo de carboidratos totais (72,9 g GE·100 g⁻¹ e.s) foi obtida em PLE-água (80 °C e 10 MPa), comparado a extração CHSE-água. A estratégia de biorrefinaria proposta pela primeira vez para fracionar os compostos bioativos da semente, possibilitou a partir da integração dos processos SFE+PLE+CHSE, aumentar o desempenho antioxidante da fração fenólica (421,8 mg GAE·g⁻¹), e obter 19,1% de goma de coloração vermelho esbranquiçada, composta por xiloglucano de alta estabilidade térmica (até 300 °C), polissacarídeo que pode ser usado no revestimento de cápsulas e no desenvolvimento de produtos gelatinosos alimentícios. Nesse estudo, foi demonstrado pela primeira vez que subprodutos subutilizados de tamarindo podem integrar diferentes rotas de biorrefinaria. Os coprodutos de alto (fração bioativa) e baixo valor (biomassa residual) agregado gerados nessas rotas são atraentes para as indústrias alimentícia, química e cosmética.

Palavras-chave: Compostos fenólicos, Ácidos graxos; Capacidade antioxidante; Biorrefinaria.

ABSTRACT

Tamarind (*Tamarindus indica* L.) is a fruit widely consumed due to the sensory characteristics of its pulp. Its industrial by-product, composed of peel, fiber, and seed, corresponds to 50-70% of the fruit and is rich in phytochemicals, although little explored. The aim of this study was the biorefining of tamarind seed and peel+fiber for the recovery of bioactive fractions. Supercritical fluid extraction (SFE), pressurized liquid extraction (PLE), subcritical water extraction (SWE), and microwave-assisted extraction (MAE) were evaluated compared to the conventional methods of Soxhlet (SOX) and hot aqueous agitation (CHSE), involving different temperatures and solvents (CO₂, ethanol, water, and 50% ethanol:water). The extracts were evaluated for total phenolic content (TPC), antioxidant capacity (DPPH, ABTS, and FRAP), and chemical characterization. The lipid fraction recovered from the seed by SFE (25 MPa and 60 °C), composed of 73% UFA (rich in linoleic and oleic acids) is an attractive nutritional source for food application. The phenolic fraction of the seed obtained in PLE (Ethanol/ 60 °C/10 MPa) showed high TPC (305.1 mg GAE·g⁻¹) and antioxidant capacity, superior to that of other solvents and SOX-ethanol extract. In the recovery of the phenolic fraction of the peel+fiber, the use of aqueous ethanol at 100 °C combined with PLE provided the extract with the highest TPC (201.6 ± 0.8 mg GAE·g⁻¹), and with MAE, recovered the extract of higher antioxidant capacity (943.1-1918.8 μmol TEAC·g⁻¹), results superior to those of SOX-ethanol. Polyphenols, flavonoids, and organic acids were identified in the phenolic fraction of seed and peel+fiber, with emphasis on citric acid, vanillic acid, rutin, and orientin reported for the first time in tamarind peel. The presence of these antioxidants in the phenolic fractions suggests their use in cosmetic and food formulations, acting in the delay the oxidation of these products. The polysaccharide fraction of the seed with the highest total carbohydrate content (72.9 g GE·100 g⁻¹ e.s) was obtained in PLE-water (80 °C and 10 MPa), compared to CHASE-water extraction. A biorefinery strategy was proposed for the first time to fractionate the bioactive compounds from the seed. The integration of the SFE+PLE+CHSE processes made it possible to increase the antioxidant performance of the phenolic fraction (421.8 mg GAE·g⁻¹), and to obtain 19.1% of whitish red gum, composed of high xyloglucan thermal stability (> 300 °C), a polysaccharide that can be used in capsule coating and the development of gelatinous food products. In this study, it was demonstrated for the first time that underutilized tamarind by-products can integrate different biorefinery routes, generating co-products of high (bioactive fraction) and low added value (residual biomass) attractive for the food, chemical, and cosmetic industries.

Keywords: Phenolic compounds, Fatty acids; Antioxidant capacity; Biorefinery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Linha do tempo dos principais estudos realizados com tamarindo de 1923 até os dias atuais.....	26
Figura 2- Locais de plantação/comercialização de tamarindo.....	27
Figura 3- Partes do tamarindo.	28
Figura 4- Estrutura química da epicatequina e suas variações estruturais.	31
Figura 5- Estrutura geral dos xiloglucanos (XG) identificados em semente de tamarindo.....	34
Figura 6- Áreas de aplicação dos resíduos de tamarindo, bem como atividade funcional e compostos responsáveis por esta atividade.	36
Figura 7- Métodos de extração utilizados para a valorização de semente e casca tamarindo, bem como as condições operacionais avaliadas e o perfil químico de interesse.....	37
Figura 8- Representação da curva cinética de extração supercrítica (rendimento mássico de extrato versus tempo de extração). Etapas do processo (CER, FER e DC) e demonstração do arraste do soluto nas diferentes etapas.....	40
Figura 9- Fluxograma de processamento da polpa de tamarindo e os resíduos gerados neste processo.	52
Figura 10- Unidade de extração para o processo SFE.....	54
Figura 11- Unidade de extração para os processos PLE e SWE.	56
Figura 12- Fluxograma de extração da goma da semente de tamarindo.	60
Figura 13 - CCE da semente de tamarindo realizada em SFE a 25 MPa, 50 °C e vazão de CO ₂ de 1,2 ± 0,2 kg·h ⁻¹	70
Figura 14 - CCE da semente de tamarindo realizada em PLE com solventes EtOH (a), EtOH 50% (b) e água (c) a 10 MPa, 80 °C e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹ . Além da redução da coloração do extrato com o tempo em EtOH e EtOH 50%.	71
Figura 15 - CCE da semente de tamarindo realizada em SWE a 10 MPa, 150 °C e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹ , bem como a redução da coloração do extrato com o tempo.	73
Figura 16 - Mapa de calor baseado na intensidade dos picos cromatográficos obtidos em UPLC-QTOF-MS em modo de ionização negativa ([MH] ⁻) referente aos metabólitos anotados nos extratos de sementes de tamarindo.	89
Figura 17- Gomas de tamarindo úmidas obtidas do extrato aquoso de (a) PLE-80°C, (b) PLE-100 °C e CHSE-80 °C após precipitação em etanol.....	96
Figura 18 - Fluxograma das rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa combinada) para extração da goma de semente de tamarindo e as respectivas condições operacionais envolvidas em cada etapa.....	101
Figura 19 - Rendimento global dos extratos em cada etapa das extrações das rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa combinada).....	105
Figura 20 - Morfologia das biomassas residuais após cada etapa das extrações das rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa combinada), com ampliação de 150X.....	106
Figura 21 - Gomas de tamarindo úmidas (previamente a secagem) obtidas nas rotas 1-convencional (a), 2-alta pressão (b) e 3-alternativa combinada (c).....	108
Figura 22- FTIR das gomas de tamarindo obtidas nas rotas 1- convencional (a), 2-alta pressão (b) e 3-alternativa combinada (c).....	110
Figura 23 - DSC das gomas de tamarindo obtidas nas rotas 1- convencional (A), 2-alta pressão (B) e 3-alternativa combinada (C), na faixa de temperatura de 22-450 °C.....	111

Figura 24 - Análise termogravimétrica (TG) das gomas de tamarindo obtidas nas três rotas (A). Curvas de TG+DTG das gomas obtidas nas rotas 1- convencional (B), 2-alta pressão (C) e 3- alternativa combinada (D).	112
Figura 25 - Teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) dos extratos etanólicos obtidos por SOX e PLE-1ª etapa (10 MPa/60 °C), com a semente de tamarindo integral, e PLE-2ª etapa (SFE: 25 MPa/60°C + PLE: 10 MPa/60°C), obtido na rota 3.	114
Figura 26 - Mistura casca+fibra de tamarindo seca e moída.	122
Figura 27 - CCE da casca de tamarindo obtida por PLE com 10 MPa, 80 °C, tempo de até 50 minutos e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹ para os solventes EtOH (a) e EtOH 50% (b), bem como a redução da coloração do extrato com o tempo.	125
Figura 28 - CCE-SWE da casca de tamarindo realizada com água a 10 MPa, 130 °C e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹ , bem como a redução da coloração do extrato com o tempo.	126
Figura 29 - CCE-MAE da casca de tamarindo realizada com os solventes EtOH 50% a 80 °C (a) e água a 130 °C (b).	127
Figura 30 - Mapa de calor baseado na intensidade dos picos cromatográficos obtidos em UPLC- QTOF-MS em modo de ionização negativa ([MH] ⁻) referente aos metabólitos anotados nos extratos de casca de tamarindo.	137
Figura 31 - Imagens de SEM da mistura (casca+fibra) de tamarindo com ampliação de 50X: (A) matéria-prima integral; (B) biomassa após SWE-150 °C; (C) biomassa após MAE-150 °C, bem como imagens dos grânulos da casca com ampliação de 150X, para cada amostra analisada.	141
Figura 32- Subprodutos do processamento de tamarindo em uma abordagem de biorrefinaria.	146
Figura 33 - Representação gráfica do balanço de massa das frações extraíveis recuperadas da semente de tamarindo a partir da integração dos processos SFE +PLE +CHSE.	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição proximal de semente, bagaço e casca de tamarindo em gramas/100 g de matéria seca.	30
Tabela 2- Classes e compostos bioativos identificados em semente e casca de tamarindo.	32
Tabela 3 - Composição proximal em gramas por 100 g de semente de tamarindo seca.	69
Tabela 4 - Parâmetros cinéticos da CCE-SFE da semente de tamarindo realizada a 25 MPa, 50 °C e vazão de CO ₂ de 1,2 ± 0,2 kg·h ⁻¹	70
Tabela 5 - Parâmetros cinéticos da CCE-PLE da semente de tamarindo realizada com os solventes EtOH, EtOH 50% e água a 10 MPa, 80 °C e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹	71
Tabela 6 - Parâmetros cinéticos da CCE-SWE da semente de tamarindo realizada a 10 MPa, 150 °C e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹	73
Tabela 7- Rendimento global dos extratos de semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).	75
Tabela 8 - Conteúdo de fenólicos totais dos extratos de semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).	78
Tabela 9- Capacidade antioxidante dos extratos de semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).	81
Tabela 10 - Percentual dos principais ácidos graxos identificados na fração lipídica da semente de tamarindo, obtida em SFE e SOX-hexano.	86
Tabela 11 - Compostos tentativamente identificados na fração fenólica de extratos de sementes de tamarindo usando UPLC - QTOF-MS/MS.	88
Tabela 12 - Conteúdo de componentes químicos totais dos extratos aquosos da semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (PLE e SWE) e convencional (CHSE).	92
Tabela 13- Parâmetros de cor L*, a*, b* das gomas obtidas da semente de tamarindo integral.	97
Tabela 14 - Parâmetros de cor L*, a*, b* das gomas obtidas nas rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa verde).	107
Tabela 15- Composição proximal em gramas/100 g de casca+fibra de tamarindo seca.	123
Tabela 16- Parâmetros cinéticos da CCE-PLE da casca de tamarindo realizada com os solventes EtOH e EtOH 50% a 10 MPa, 80 °C e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹	125
Tabela 17 - Parâmetros cinéticos obtidos na CCE-SWE da casca de tamarindo realizada com água a 10 MPa, 130 °C e vazão do solvente de 4 mL·min ⁻¹	126
Tabela 18 - Parâmetros cinéticos obtidos na CCE-MAE da casca de tamarindo realizada com EtOH 50% a 80 °C e água a 130 °C.	128
Tabela 19- Rendimento global dos extratos da casca de tamarindo obtidos nas extrações PLE SWE, MAE e SOX.	129
Tabela 20- Conteúdo de fenólicos totais (TPC) dos extratos da casca de tamarindo obtidos em extrações a alta pressão (PLE, SWE e MAE) e convencional (SOX).	132
Tabela 21 - Capacidade antioxidante dos extratos da casca de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).	134
Tabela 22 - Compostos tentativamente identificados na fração fenólica de extratos de casca de tamarindo usando UPLC- QTOF-MS/MS.	138

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABTS - ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6- sulfônico)
a* - Coordenada vermelho-verde na escala CIELab
ANOVA - Análise de variância
b* - Coordenada amarelo-azul na escala CIELab
C* - Cromacidade
CER - Etapa constante de extração (*Constant Extraction Rate*)
CGE - Curva cinética de extração
CHSE- Extração convencional por agitação a quente (*Conventional hot stirring extraction*)
DC - Etapa difusional de extração (*Diffusion Controlled*)
DPPH - 1,1-difenil-2-picrilidrazina
EtOH – Etanol
FDA - *Food and Drug Administration*
FER - Etapa decrescente de extração (*Falling Extraction Rate*)
FT-IR - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (*Fourier transform infrared spectroscopy*)
GAE - Equivalente ácido gálico
GRAS - Reconhecido como Solvente Seguro (*General Recognized as Safe Solvente*)
HAT - Transferência de átomos de hidrogênio (*Hydrogen-atom transfer*)
HEX- Hexano
L* - Luminosidade
LATESC - Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica
MAE - Extração Assistida por Micro-ondas (*Microwave assisted Extraction*)
SEM - Microscopia eletrônica de varredura (*Scanning electron microscopy*)
NMR- Ressonância Magnética Nuclear (*Nuclear magnetic resonance*)
PLE - Extração com Líquido Pressurizado (*Pressurized liquid Extraction*)
SET - Transferência simples de elétrons (*Single-electron transfer*)
SFA- Ácidos graxos saturados (*Saturated fatty acids*)
SFE - Extração Fluido Supercrítico (*Supercritical Fluid Extraction*)
SOX - Soxhlet
SWE- Extração com Água Subcrítica (*Subcritical water Extraction*)
TEAC = Equivalente em Trolox para capacidade antioxidante (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*)
TGA - Análise termogravimétrica (*Thermogravimetric analysis*)
UFA- Ácidos graxos insaturados (*Unsaturated fatty acids*)
UPLC-QTOF-MS- Cromatografia líquida de alta resolução (*Ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry*)
XG- Xiloglucano
 ΔE - Diferença total de cor

SUMÁRIO

DIAGRAMA CONCEITUAL.....	17
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	18
1.1 INTRODUÇÃO.....	19
1.2 OBJETIVOS.....	21
1.2.1 Objetivo geral.....	21
1.2.2 Objetivos específicos.....	21
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
Subprodutos do processamento de <i>Tamarindus indica</i> L.: extração e aplicação funcional dos metabólitos ativos.....	23
2.1 SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS COMO FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	24
2.2 BIORREFINO DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS.....	25
2.3 TAMARINDO (<i>Tamarindus indica</i> L.).....	26
2.3.1 Aspectos históricos.....	26
2.3.2 Subprodutos do processamento de tamarindo.....	28
2.3.2.1 <i>Composição proximal e química dos resíduos de tamarindo.....</i>	<i>28</i>
2.3.2.2 <i>Aplicação funcional dos resíduos de tamarindo.....</i>	<i>35</i>
2.3.2.3 <i>Extração de metabólitos ativos presentes em resíduos de tamarindo.....</i>	<i>36</i>
2.4 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	38
2.4.1 Extração convencional.....	38
2.4.2 Tecnologias verdes de extração.....	38
2.4.2.1 <i>Extração Fluido Supercrítico (SFE).....</i>	<i>38</i>
2.4.2.1.1 <i>Curva cinética de extração (CCE).....</i>	<i>39</i>
2.4.2.2 <i>Extração Líquido Pressurizado (PLE).....</i>	<i>40</i>
2.4.2.3 <i>Extração Água Subcrítica (SWE).....</i>	<i>42</i>
2.4.2.4 <i>Extração Assistida por Micro-ondas (MAE).....</i>	<i>43</i>
2.5 CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS.....	44
2.5.1 Conteúdo fenólico total (TPC).....	44
2.5.2 Capacidade antioxidante de extratos vegetais.....	45
2.5.2.1 <i>Ensaio de eliminação do radical DPPH.....</i>	<i>45</i>
2.5.2.2 <i>Ensaio de captura do radical ABTS•+.....</i>	<i>46</i>
2.5.2.3 <i>Ensaio de redução do íon férrico (FRAP).....</i>	<i>47</i>
2.5.3 Análise colorimétrica.....	47
2.5.4 Propriedades físicas e estruturais do xiloglucano (XG).....	48

2.6 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DO ESTADO DA ARTE.....	49
CAPÍTULO 3	50
Valorização da semente de tamarindo (<i>Tamarindus indica</i> L.) por métodos a alta pressão para obtenção de diferentes frações bioativas	50
3.1 INTRODUÇÃO.....	51
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
3.2.1 Caracterização da matéria-prima	51
3.2.1.1 Determinação do diâmetro médio de partícula	52
3.2.1.2 Composição proximal	53
3.2.2 Processos de extração	54
3.2.2.1 Extração com Fluido Supercrítico (SFE).....	54
3.2.2.2 Extração com Líquido Pressurizado (PLE)	56
3.2.2.3 Extração com Água Subcrítica (SWE)	58
3.2.2.4 Extração em Soxhlet (SOX).....	58
3.2.2.5 Extração sólido-líquido por agitação a quente (CHSE).....	59
3.2.2.6 Extratos aquosos: extração da goma da semente de tamarindo.....	59
3.2.2.7 Rendimento global (X_0) das extrações	61
3.2.3 Caracterização dos extratos apolar e polar	61
3.2.3.1 Conteúdo fenólico total (TPC)	61
3.2.3.2 Capacidade antioxidante.....	62
3.2.3.3 Identificação do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa (GC-MS)	64
3.2.3.4 Identificação do perfil químico dos extratos por espectrometria de massas (UPLC-MS-QTOF).....	64
3.2.4 Caracterização dos componentes químicos totais dos extratos aquosos	65
3.2.5 Caracterização da goma da semente de tamarindo	66
3.2.6 Análise estatística	67
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
PARTE I	67
3.3.1 Caracterização da matéria-prima	67
3.3.2 Curvas cinéticas de extração (CCE)	69
3.3.3 Avaliação do rendimento global das extrações	74
3.3.4 Avaliação do conteúdo fenólico total (TPC) dos extratos	78
3.3.5 Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos	80
3.3.6 Perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa (GC-MS)	83
3.3.7 Perfil químico dos extratos por UPLC-QTOF-MS^E	87
PARTE II	91

3.3.8 Avaliação dos componentes químicos nos extratos aquosos	92
3.3.9 Caracterização da goma da semente de tamarindo integral.....	95
3.3.9.1 Rendimento global (X_0)	95
3.3.9.2 Determinação dos parâmetros de cor.....	96
3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
CAPÍTULO 4	99
Integração dos processos de extração para potencializar a produção de goma da semente de <i>Tamarindus indica</i> L.	99
4.1 INTRODUÇÃO.....	100
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	100
4.2.1 Rotas de extração	100
4.2.2 Caracterização geral da goma da semente de tamarindo	101
4.2.3 Caracterização estrutural e térmica da goma da semente de tamarindo	102
4.2.3.1 Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	102
4.2.3.2 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e termogravimétrica (TGA).....	102
4.2.4 Caracterização da fração fenólica	103
4.2.5 Análise estatística	103
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
4.3.1 Efeito das condições de extração no rendimento e na morfologia da biomassa residual	103
4.3.2 Avaliação dos parâmetros de cor das gomas	107
4.3.3 Caracterização estrutural da goma da semente de tamarindo	109
4.3.4 Caracterização térmica da goma da semente de tamarindo	110
4.3.5 Caracterização da fração fenólica	113
4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	115
CAPÍTULO 5	116
Casca de tamarindo (<i>Tamarindus indica</i> L.): biomassa lignocelulósica fonte de compostos fenólicos	116
5.1 INTRODUÇÃO.....	117
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	118
5.2.1 Caracterização da matéria-prima	118
5.2.2 Métodos de extração	118
5.2.2.1 Extração Soxhlet (SOX)	118
5.2.2.2 Extração com líquido pressurizado (PLE).....	118
5.2.2.3 Extração com Água Subcrítica (SWE)	119

5.2.2.4 <i>Extração Assistida por Micro-ondas (MAE)</i>	120
5.2.2.5 <i>Rendimento global das extrações</i>	120
5.2.3 Caracterização dos extratos	120
5.2.3.1 <i>Conteúdo fenólico total (TPC) e Capacidade antioxidante</i>	120
5.2.3.2 <i>Identificação do perfil químico dos extratos por Espectrometria de massas (UPLC-MS-QTOF)</i>	121
5.2.4 Análise estatística	121
5.2.4 Morfologia da biomassa residual da extração	121
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	122
5.3.1 Caracterização da matéria-prima	122
5.3.2 Curvas cinéticas de extração	124
5.3.3 Avaliação do rendimento global (X₀) de extração	128
5.3.4 Avaliação do conteúdo fenólico total (TPC) dos extratos	131
5.3.5 Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos	133
5.3.6 Perfil químico dos extratos por UPLC-QTOF-MS^E	136
5.3.7 Morfologia da biomassa residual da extração	140
5.4 CONSIDERAÇÃO FINAL	142
CAPÍTULO 6	143
Proposta de recuperação de compostos de valor agregado dos subprodutos do processamento de tamarindo seguindo uma abordagem de biorrefinaria	143
CAPÍTULO 7	149
Conclusão e sugestão de trabalhos futuros	149
7.1 CONCLUSÃO GERAL	150
7.2 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	151
REFERÊNCIAS	152
APÊNDICE A – ARTIGOS PUBLICADOS	175
APÊNDICE B - CURVA ANALÍTICA DE ÁCIDO GÁLICO	176
APÊNDICE C - CURVA ANALÍTICA DE TROLOX	177
APÊNDICE D – CROMATOGRAMAS UPLC-QTOF-MS	179
APÊNDICE E - CURVAS ANALÍTICAS DE GLICOSE E ÁCIDO D-GALACTURÔNICO	181

DIAGRAMA CONCEITUAL

Por quê?

- O tamarindo (*Tamarindus indica* L.) é um fruto difundido em todo o mundo.
- Cerca de 11 a 30% de tamarindo corresponde a casca/fibra, e 25 a 40% corresponde a semente.
- A semente é rica em carboidratos, proteínas e lipídeos, enquanto que a casca é rica em fibras e carboidratos totais.
- Proporcionar um destino adequado para estes subprodutos pode reduzir impactos ambientais, e estimular o uso desta biomassa para a extração de compostos de alto valor agregado, gerando insumos em diferentes áreas industriais.

Quem já fez?

- Na literatura técnico-científica grande parte dos estudos com resíduos do tamarindo, em especial a semente, é relacionado a sua função farmacológica, química e cosmetológica.
- Métodos convencionais de extração, como Soxhlet e maceração utilizando solventes orgânicos, são comumente aplicados para a obtenção dos extratos da casca e da semente.
- Extração assistida em micro-ondas foi o método não convencional utilizado até o momento para a extração de fenólicos da casca e da semente.

Hipóteses

- A extração a alta pressão pode ser utilizada para valorizar subprodutos do tamarindo, obtendo de forma seletiva diferentes frações químicas desta biomassa.
- Os subprodutos de tamarindo, quando submetidos a extração a alta pressão, podem ser utilizados como fonte de compostos bioativos.
- Extratos de casca e semente de tamarindo representam uma fonte de antioxidantes naturais.
- Após a extração a biomassa residual pode ser fonte de produtos de baixo valor agregado.
- A integração dos processos de extração potencializa a recuperação de diferentes frações bioativas.

Como fazer?

- Avaliar as condições de extração e correlacionar com a seletividade dos compostos.
- Analisar os extratos quanto a sua composição química e função antioxidante.
- Integrar processos de extração para potencializar o aproveitamento dos subprodutos.
- Propor rotas de biorrefino dos subprodutos de acordo com as condições selecionadas.

Respostas

- Aplicação de métodos a alta pressão para o fracionamento dos subprodutos em diferentes frações químicas.
- Caracterização das frações obtidas quanto ao teor de fenólicos totais, capacidade antioxidante e composição química.
- Determinação das condições ideais de processamento extrativo.
- Obtenção de frações lipídica, fenólica e polissacarídica da semente e fenólica da casca.
- Avaliação da biomassa residual como matéria-prima para a produção de outros produtos.
- Integração de processos de extração para potencializar a extração das frações bioativas.

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO

A implementação de conceitos de biorrefinaria e economia circular está cada vez mais presente em diferentes áreas do conhecimento, visando reformular as estratégias de uso dos produtos e reduzir os impactos ambientais em nível organizacional, bem como o consumo de recursos e a geração de resíduos (AVRAAMIDOU et al., 2019). Diante desses conceitos, recentemente surgiu o termo bioeconomia circular, que tem como base os conceitos de economia circular, no entanto, a matéria-prima é a biomassa (ARAUJO et al., 2022).

O capital natural e as características de mercado do Brasil, tornam o país atraente para a aplicação de bioeconomia circular. De acordo com GINNI et al. (2021), cerca de 518 milhões de toneladas de resíduos agrícolas são gerados por ano no Brasil. A partir desses resíduos, muitos produtos e processos podem ser desenvolvidos, bem como energia, impulsionando uma economia sustentável (ZABANIOTOU; KAMATEROU, 2019).

Dentre os setores que requerem maior atenção no gerenciamento de resíduos, destaca-se a indústria de processamento de frutas, que gera mais de 500 milhões de toneladas de resíduos em todo o mundo (BANERJEE et al., 2017). Tamarindo (*Tamarindus indica* L.), por exemplo, é um fruto cultivado/produzido em diferentes países, e gera entre 50 a 70% de resíduos após seu processamento para a produção de doces, xaropes, geleias, sucos e frutas desidratadas (CALUWÉ; HALAMOVÁ; DAMME, 2010; SOUZA et al., 2018).

Os resíduos de tamarindo, em especial semente e casca, são subvalorizados industrialmente, apesar da rica composição em nutrientes (carboidratos, proteínas, vitaminas e minerais) e compostos bioativos (compostos fenólicos, polissacarídeos, polifenóis, alcaloides e ácidos graxos) (MENEZES et al., 2016). Os resíduos de tamarindo são uma promissora fonte de insumos apropriados para as indústrias de alimentos, fármacos e cosméticos (GUPTA et al., 2010; NARAYANASWAMY; ISMAIL, 2015; SUNDARAM et al., 2015). O xiloglucano, por exemplo, é o polissacarídeo majoritário da semente e comercializado a mais de 50 anos no Japão com a marca Glyloid®, sendo utilizado na incorporação de diferentes produtos alimentícios (KULKARNI et al., 2017).

A conversão da biomassa em novos produtos, por exemplo, extratos funcionais, principalmente nos moldes da produção sustentável e renovável, é um dos desafios enfrentados pelas indústrias (CHERUBINI, 2010). Além da complexidade da composição da matriz vegetal, uma vez que os compostos-alvo geralmente estão ligados quimicamente a uma variedade de outras substâncias (ALANÓN et al., 2017). Assim, o constante aperfeiçoamento do processo extrativo é incentivado para obter extratos seletivos e de qualidade, que se enquadrem nos requisitos do processamento sustentável (CHEMAT et al., 2019).

Extrações convencionais como Soxhlet e maceração são os principais procedimentos usados para obter compostos bioativos de semente e casca de tamarindo (CHUNGLOK et al., 2014; CVETANOVIĆ et al., 2020). Recentemente, tecnologias de extração sustentáveis, como extração fluido supercrítico (SFE), extração líquido pressurizado (PLE) e extração assistida por micro-ondas (MAE) vêm sendo propostas para otimizar a extração das frações bioativas desses resíduos (REIS et al., 2016; GANESAPILLAI; VENUGOPAL; SIMHA, 2017; LIMSANGOUAN et al., 2020). Esses métodos usam principalmente solventes GRAS, reconhecido como solvente seguro (Inglês: *General Recognized as Safe Solvente*) (CO₂, água, etanol e suas misturas) e fornecem, a partir do ajuste dos parâmetros operacionais, maior seletividade para compostos-alvo (JEYARATNAM et al., 2016). Entretanto, ainda há lacunas quanto à valorização dos resíduos de tamarindo, como o desenvolvimento e a otimização dos processos de extração, a integração entre processos extrativos, com base nos conceitos de biorrefinaria, e a incorporação dos extratos em produtos comercializáveis. Portanto, tornando este estudo inovador e relevante científica e economicamente.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo é a valorização de semente e casca+fibra de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) a partir da recuperação de frações bioativas por métodos de extração a alta pressão aplicados aos conceitos de biorrefinaria.

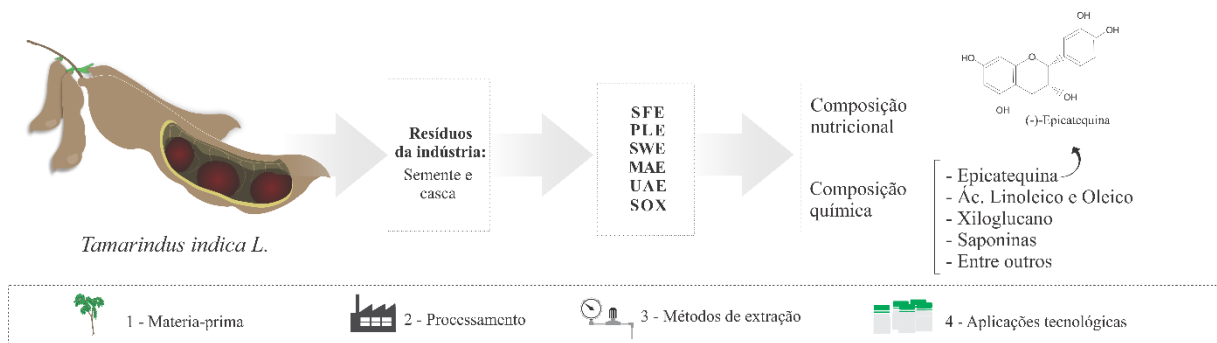
1.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a composição proximal de semente e casca+fibra de tamarindo.
- Comparar e avaliar a eficiência da extração com fluido supercrítico (SFE) sob diferentes pressões e temperaturas, em relação a extração convencional Soxhlet (SOX) com hexano, para a obtenção da fração lipídica da semente de tamarindo.
- Comparar e avaliar a eficiência da extração com líquido pressurizado (PLE) e a extração com água subcrítica (SWE) sob diferentes condições de operação e de solvente, em relação a extração convencional Soxhlet (SOX) com etanol, para a obtenção da fração fenólica da semente de tamarindo.
- Comparar e avaliar a eficiência de PLE, SWE e extração assistida por micro-ondas (MAE) sob diferentes condições de operação e de solvente, em relação ao SOX com etanol, para a obtenção da fração fenólica da casca+fibra de tamarindo.
- Caracterizar os extratos de semente e casca+fibra de tamarindo em relação a rendimento, conteúdo de fenólico total (TPC) e capacidade antioxidante pelos ensaios de captura do radical DPPH, redução do íon férrico (FRAP) e captura do radical ABTS⁺.
- Avaliar o perfil de ácidos graxos da fração oleosa da semente de tamarindo por cromatografia gasosa (GC-MS).
- Avaliar o perfil químico da fração fenólica dos extratos de semente e casca+fibra de tamarindo por cromatografia líquida de alta resolução e espectrometria de massa de alta resolução (UPLC-QTOF-MS^E).
- Comparar e avaliar a eficiência dos extratos aquosos de PLE e SWE em relação a extração convencional por agitação a quente (CHSE), para a obtenção da fração polissacarídica (goma) da semente de tamarindo.
- Caracterizar as gomas da semente de tamarindo em relação a composição química geral (carboidratos totais, ácido urônico e proteínas totais), rendimento e cor.

- Avaliar a eficiência de diferentes rotas de extração para potencializar a produção da goma da semente, em relação ao rendimento, cor, estrutura química (NMR, FT-IR) e estabilidade térmica (TGA e DSC), com foco no xiloglucano.
- Determinar rotas de biorrefino geral para os subprodutos do processamento de tamarindo em uma abordagem de biorrefinaria e economia circular.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Subprodutos do processamento de *Tamarindus indica* L.: extração e aplicação funcional dos metabólitos ativosⁱ



ⁱ Martins, C. M., Ferro, D. M., de Brito, E. S., & Ferreira, S. R. S. (2020). Industrial relevance of *Tamarindus indica* L. by-products as source of valuable active metabolites. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 66 (September), 102518. (vide Apêndice A)

2.1 SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS COMO FONTE DE COMPOSTOS BIOATIVOS

O aumento substancial de resíduos gerados em diversos setores de processamento agroindustrial é um dos desafios do século XXI (GINNI et al., 2021). Mundialmente são gerados 1,3 bilhão de toneladas de resíduos por ano, incluindo resíduos oriundos do processamento e do desperdício na cadeia produtiva (FREITAS et al., 2021). Cerca de 40% deste resíduo é proveniente de frutas e vegetais (BANERJEE et al., 2017), e dentre os países produtores de frutas, o Brasil é o líder mundial em produção, gerando assim uma grande quantidade de resíduos (PARFITT; BARTHEL; MACNAUGHTON, 2010; SAQIB et al., 2019).

A ONU (Organização das Nações Unidas) propôs em 2015 dezessete “Objetivos para o Desenvolvimento Sustentável” (ODS), visando o desenvolvimento sustentável e econômico. Destaque especial é dado as ODS de fome zero e agricultura sustentável; e consumo e produção sustentável, que estão diretamente associadas a biomassa residual. Até então, os resíduos agroindustriais ainda são pouco valorizados, sendo por vezes depositados em aterros ou simplesmente descartados em locais inadequados, o que proporciona sérios problemas ao ecossistema (FREITAS et al., 2021). Esses resíduos, no entanto, possuem em sua composição uma valiosa fonte de compostos bioativos com características funcionais aplicáveis a diferentes setores industriais. Assim, o aproveitamento sustentável da biomassa residual enfrenta atualmente o desafio de obter essas biomoléculas e caracterizá-las (VILLELA; MEIRELES; MENDES, 2018).

De acordo com as vias bioquímicas e classes químicas, os compostos bioativos nas plantas podem ser categorizados nos seguintes grupos químicos: glicosídeos (glicosídeos cardíacos, glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, saponinas e glicosídeos antraquinona), compostos fenólicos (ácidos fenólicos e hidroxicinâmicos, estilbenos, flavonoides e antocianinas), taninos, ácidos graxos, terpenos, polissacarídeos, alcaloides, proteínas e peptídeos (BERNHOF, 2010; BUBALO et al., 2018). Os compostos bioativos estão presentes em extratos de raízes, caule, casca, folhas, flores, frutos e sementes, na planta atuam como estratégia de defesa, em humanos e animais provocam efeitos farmacológicos ou toxicológicos (AZMIR et al., 2013).

Diferentes classes de compostos podem ser identificadas em um mesmo resíduo, uma vez que cada uma dessas substâncias exerce função diferente na planta, podendo também proporcionar atividades benéficas diferentes à saúde (ZABANIOTOU; KAMATEROU, 2019). Esses efeitos benéficos impulsionam a valorização de resíduos que antes seriam descartados no

ambiente, mas que podem ser gerenciados para integrar outras cadeias produtivas como parte de uma economia circular, com base nos conceitos de biorrefinaria.

2.2 BIORREFINO DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS

A bioeconomia circular vem atraindo a atenção científica e política como uma opção promissora para aumentar os benefícios da biomassa residual agroalimentar, aliado a redução do impacto ambiental. Dentro da bioeconomia circular, estão os conceitos de biorrefinaria e química verde, que englobam diferentes rotas de conversão das biomassas agroindustriais em biocombustíveis, insumos químicos, materiais, alimentos, rações e energia (AVRAAMIDOU et al., 2019). Apesar do conceito de biorrefinaria ser dinâmico, podendo variar de acordo com a biomassa utilizada, em geral haverá a formação de dois produtos, um de grande volume e baixo valor econômico unitário (Ex. biocombustíveis, fibras e substâncias estruturais) e outro de baixo volume e alto valor agregado (Ex. compostos bioativos, aditivos, etc) (CORATO et al., 2018).

Biorrefinarias em escala industrial estão especialmente relacionadas à produção de biocombustível. No entanto uma abordagem extrativa sequencial, que objetiva inicialmente extratos ricos em compostos bioativos também pode auxiliar no fluxo de processamento de uma biorrefinaria, uma vez que na biomassa residual da extração, podem ser compostas por substâncias não extraíveis (a exemplo: nutricional, estrutural), que a tornam uma relevante matéria-prima (CHERTOW, 2000; YU; DAVIS; DIJKEMA, 2014; FIORENTINO; RIPA, 2017). Assim, de acordo com a biomassa e as rotas de integração propostas, o desenvolvimento sustentável local e regional é impulsionado, indo além da dimensão ambiental (DEUTZ; GIBBS, 2008).

O Brasil é um dos países propícios a aplicação dos conceitos de biorrefinaria, considerando a elevada produção/consumo de frutas e vegetais, grupo de alimentos de maior desperdício alimentar em todo o mundo (BANERJEE et al., 2017). As frutas, em especial, são uma importante fonte de nutrientes e compostos bioativos, concentrando grande porcentagem dessas substâncias nos resíduos do seu processamento, como casca, semente e bagaço (LIMA et al., 2018).

Espécies frutíferas como maracujá, laranja, acerola e uva, devido ao seu cultivo em larga escala, são mais conhecidas/consumidas e industrializadas em diferentes regiões do Brasil, e os seus resíduos comumente reaproveitados. No entanto, frutas exóticas, como jambolão, pitanga e tamarindo, que são conhecidas e consumidas de acordo com as práticas culturais, têm despertado bastante atenção devido a suas propriedades sensoriais, nutricionais,

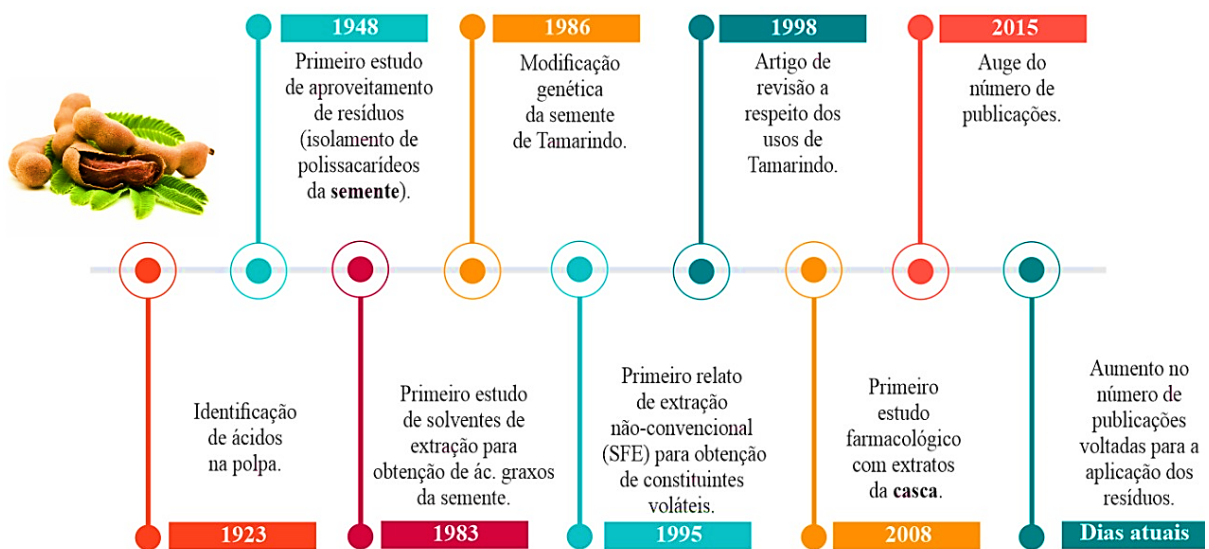
terapêuticas e composição nutricional (SANTOS; SANTANA, 2019). Destaque especial é dado ao tamarindeiro que produz em média de 150 a 200 kg de fruto por ano, e tem participação crescente no agronegócios das regiões Nordeste e Centro-Oeste do Brasil. Considerando que após o processamento do tamarindo são gerados de 50 a 70% de subprodutos (SOUZA et al., 2018; TOUNGOS, 2019), estratégias baseadas em conceitos de biorrefinaria para o aproveitamento da fração bioativa dos resíduos deste fruto são de elevada relevância socioeconômica, industrial e sustentável.

2.3 TAMARINDO (*Tamarindus indica* L.)

2.3.1 Aspectos históricos

Tamarindo (*Tamarindus indica* L.) é um fruto pertencente à família Fabaceae, que se adapta facilmente em regiões semitropicais com baixa pluviosidade. Este fruto é popularmente conhecido como tsamiya ou okpa na Nigéria, tamarinde na África do Sul e tamarindo na Índia (OLAGUNJU et al., 2018). Em pesquisa realizada em 2020 na base de dados *Scopus*, com as palavras-chave: *Tamarindus* AND *indica*, foi possível detectar o perfil de publicações relacionadas a este fruto. Foram identificados um total de 1.305 documentos, relacionados as diversas partes do fruto. A **Figura 1** apresenta a linha do tempo dos artigos de relevância a respeito da extração e do aproveitamento dos resíduos de tamarindo.

Figura 1- Linha do tempo dos principais estudos realizados com tamarindo de 1923 até os dias atuais.

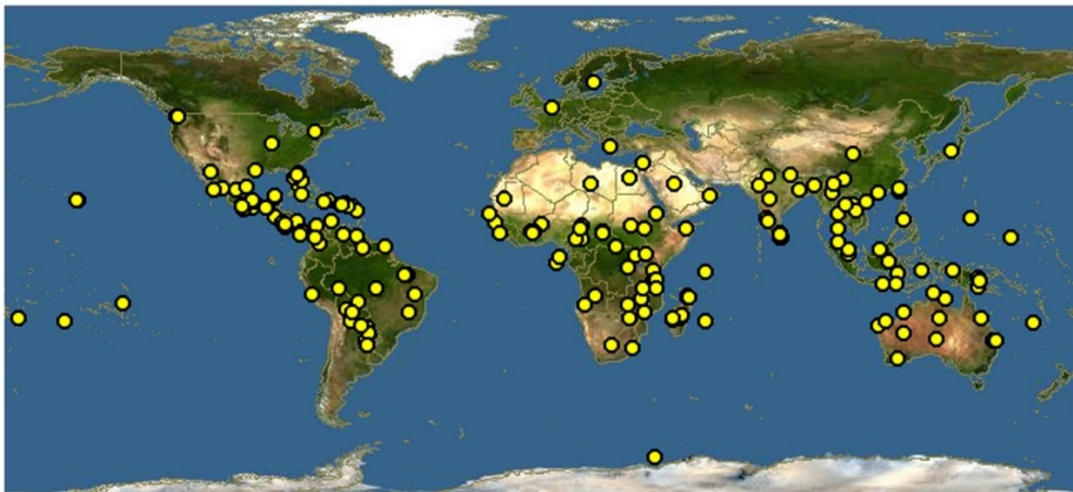


Fonte: Autor, 2022.

O primeiro artigo relacionado ao tamarindo foi publicado em 1923, no qual foram identificados ácidos cítrico, tartárico e málico na polpa (FRANZEN; KAISER, 1923). Em 1948 foi publicado o primeiro artigo visando o aproveitamento de resíduos do processamento de tamarindo, no qual, SAVUR; SREENIVASAN, (1948) caracterizaram e isolaram polissacarídeos da semente para aplicação polimérica. GUERIN; REVEILLERE (1984), relataram a primeira atividade funcional do extrato de tamarindo, indicando sua função antifúngica. Em 1986 foi publicado o primeiro estudo de avaliação da modificação genética do fruto (PATEL; DEVI, 1986). Desde então, a diversidade genética do tamarindo se expandiu devido à extensão das regiões de plantio, a polinização cruzada das espécies e a sua rápida adaptação as condições ambientais (BAIYERI; UGESE; NWOBODO, 2019).

Embora seja nativo de Madagascar, o tamarindo é cultivado no mundo inteiro (**Figura 2**), devido à fácil adaptabilidade e à rápida germinação das sementes (HAVINGA et al., 2010). As características sensoriais do tamarindo o tornam uma importante fonte de nutrientes na culinária, sendo empregado na produção de xaropes, sucos, polpa de frutas, geleias e doces (CALUWÉ; HALAMOVÁ; DAMME, 2010).

Figura 2- Locais de plantação/comercialização de tamarindo.



Fonte: www.discoverlife.org/mp/20q

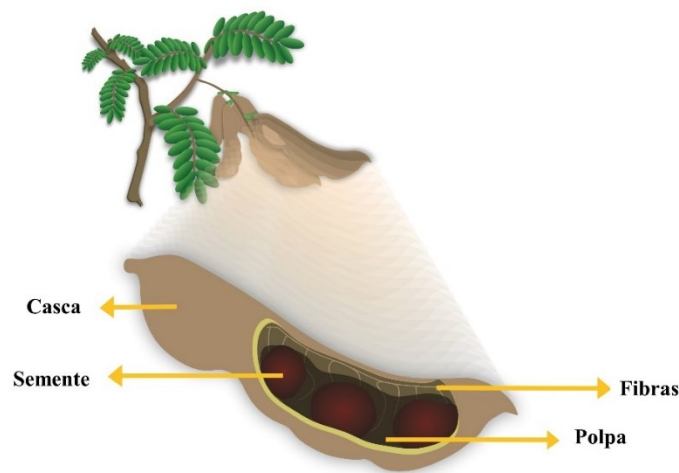
No Brasil são identificadas duas variedades deste fruto, uma de sabor azedo, mais frequentemente cultivada nos estados do Ceará e Goiás, e outra adocicada encontrada em menor produção no litoral da Bahia (REIS et al., 2016). Este fruto é consumido principalmente na forma de polpa para suco (fresca, congelada ou desidratada), mas sua polpa também é utilizada na elaboração de balas, doces, sucos engarrafados e licores. Em outros países, sua polpa também é usada como condimento para carnes e molhos e na produção de refrigerantes e conservas

(CALUWÉ; HALAMOVIÁ; DAMME, 2010). A partir do processamento do fruto resíduos como semente, casca e fibra são gerados, e apesar de serem estudados como insumo para diferentes aplicações desde o ano de 1948, ainda são subutilizados.

2.3.2 Subprodutos do processamento de tamarindo

O tamarindo é estruturalmente separado em quatro partes: a casca, marrom escuro ou cinza, composta por rachaduras dispostas longitudinal e horizontalmente; as fibras, lenhosas ramificadas que aderem na polpa; a polpa, parte comestível e marrom, doce ou ácida; e as sementes, internas ao endocarpo, de forma oval e marrom longo e brilhante (**Figura 3**) (RAO; MATHEW, 2012). Cerca de 30-50% do tamarindo corresponde à polpa, 11 a 30% corresponde a casca/fibra, e 25 a 40% corresponde a semente (RAO; MATHEW, 2012). Sendo a polpa a parte do tamarindo mais utilizada industrialmente, em alguns países, como no Brasil, os subprodutos gerados ainda são subutilizados, sendo descartados no meio ambiente ou incorporados na alimentação animal (AENGWANICH et al., 2009; SOUZA et al., 2018).

Figura 3- Partes do tamarindo.



Fonte: Autor, 2022.

Os subprodutos de tamarindo, em especial casca e semente, possuem em sua composição uma diversidade de substâncias bioativas e funcionais que impulsionam o aproveitamento desta biomassa como fonte de compostos de interesse industrial.

2.3.2.1 Composição proximal e química dos resíduos de tamarindo

Os resíduos de tamarindo são boas fontes de nutrientes como minerais, lipídios, proteínas, fibras e carboidratos. A **Tabela 1** apresenta a composição proximal em gramas/100 g de matéria seca de semente, bagaço e casca de acordo com as regiões de cultivo do fruto.

A semente de tamarindo é formada pelo revestimento ou testa (20-30%) e pelo caroço ou endosperma (70-75%) (OLUSEYI; TEMITAYO, 2015). Os grãos inteiros da semente são uma valiosa fonte de proteína (13,3-52,4 g·100 g⁻¹) e lipídios (1,7-19,0 g·100 g⁻¹) quando quantitativamente comparados a outras partes da fruta, devido a sua funcionalidade na planta como órgão de reserva de nutrientes (FERREIRA et al., 2019). Além disso, a semente é rica em cálcio, fósforo, magnésio e potássio e contém grandes quantidades de aminoácidos essenciais (BAGUL; SONAWANE; ARYA, 2018). O revestimento da semente é rico em fibras (20%) e taninos (20%). Os taninos, bem como o ácido fítico e o inibidor de tripsina são antinutrientes comumente associados a semente de leguminosas. A presença dessas substâncias na semente de tamarindo a torna inadequada para consumo humano direto. No entanto, o conteúdo desses antinutrientes pode ser reduzido consideravelmente após a imersão da semente em água quente (OLAGUNJU et al., 2018). Após a retirada dos antinutrientes, a semente de tamarindo torna-se uma fonte de proteína alternativa de baixo custo e segura para o consumo da população, e os antinutrientes isolados têm potencial uso na indústria farmacêutica (OLUSEYI; TEMITAYO, 2015).

O bagaço de tamarindo, constituído por pericarpo, fibras estruturais e pedicelo da vagem, possui uma composição semelhante à da casca, com baixo teor lipídico (0,54-0,65 g·100 g⁻¹) e alto teor de fibras (67,4-70,3 g·100 g⁻¹). As fibras insolúveis, representadas por lignina e polissacarídeos estruturais (celulose e hemicelulose) são o principal tipo de fibra presente na casca de tamarindo (FERREIRA et al., 2019). Essas fibras agem principalmente com ação mecânica durante o trânsito digestivo e afetam a digestão de lipídios pela absorção de sais biliares, usados para emulsificar glóbulos de gordura (GARCIA-AMEZQUITA et al., 2018). A casca possui ainda um alto teor de carboidratos totais (16,3 g·100g⁻¹), que também pode ser encontrado em grandes proporções na semente (17,4-59,3 g·100 g⁻¹).

Tabela 1- Composição proximal de semente, bagaço e casca de tamarindo em gramas/100 g de matéria seca.

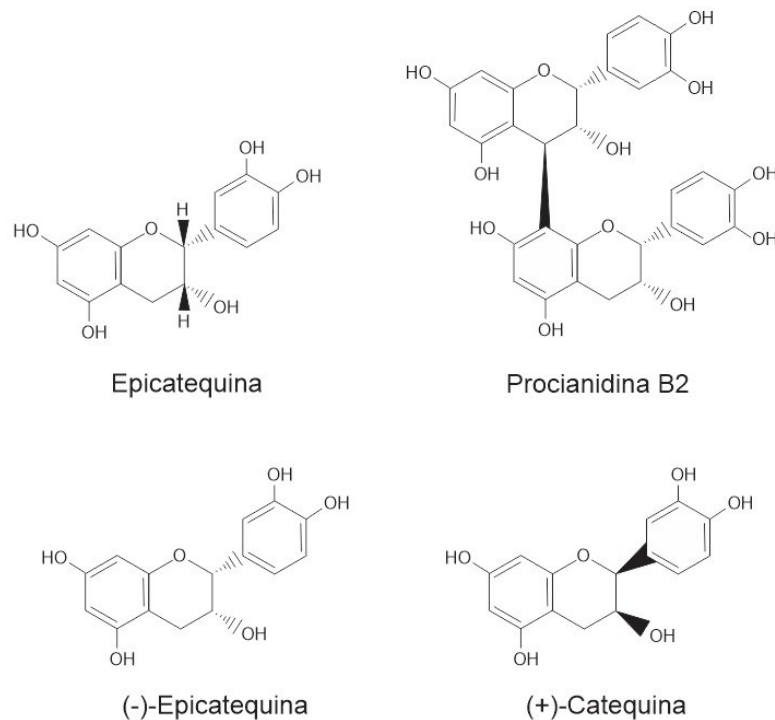
Resíduo	Origem	Umidade	Cinzas	Lipídeos	Proteínas	Fibras*	Carboidratos**	Referências
	Brasil	10,20 ± 0,02	2,22 ± 0,01	1,77 ± 0,01	14,56 ± 0,35	53,89 ± 0,01	17,40 ± 0,01	(FERREIRA et al., 2019)
	Nigéria	9,66 ± 0,15	3,60 ± 0,16	19,00 ± 0,03	48,07 ± 0,32	5,69 ± 0,01	23,62 ± 0,01	(OLAGUNJU et al., 2018)
	Sudão	10,99 ± 0,10	2,50 ± 0,01	3,90 ± 0,05	20,23 ± 0,56	3,08 ± 0,04	59,30 ± 0,40	(MOHAMED; MOHAMED; AHMED, 2015)
Semente	Sudão	11,21 ± 0,01	2,17 ± 0,05	3,17 ± 0,04	23,75 ± 0,08	2,51 ± 0,01	57,33 ± 0,24	
	Nigéria	10,2 ± 0,01	4,3 ± 0,02	13,5 ± 0,05	52,4 ± 0,01	6,0 ± 0,01	19,6 ± 0,10	(OLUSEYI; TEMITAYO, 2015)
	Brasil	9,78 ± 0,05	2,16 ± 0,02	3,41 ± 0,01	12,74 ± 0,06	NQ	71,91 ± 0,10	(LUZIA; JORGE, 2011)
	Índia	9,44 ± 0,14	1,78 ± 0,03	5,05 ± 1,20	15,70 ± 0,97	NQ	55,00 ± 1,8	(SARKAR; GHOSH, 2016)
Bagaço***	México	6,47 ± 0,11	4,08 ± 0,03	0,65 ± 0,10	3,90 ± 0,05	67,43 ± 1,14	24,0 ± 0,60	(GARCIA-AMEZQUITA et al., 2018)
Casca	Brasil	5,96 ± 0,01	3,76 ± 0,01	0,54 ± 0,01	3,22 ± 0,14	70,33 ± 0,01	16,30 ± 0,01	(FERREIRA et al., 2019)

NQ (não quantificado); * Fibra alimentar total (solúvel e insolúvel); ** Carboidratos totais; *** Bagaço: constituído por resíduos do pericarpo, fibras estruturais e pedicelo.

A rica composição nutricional destacada nos resíduos de tamarindo incentiva o seu aproveitamento como fonte de energia, enquanto que seus metabólitos secundários podem ser aplicados nas indústrias nutraceutica, cosmética e alimentícia. No tamarindo, diferentes classes de substâncias foram identificadas, como é apresentado na **Tabela 2**.

Dentre as classes de compostos presentes nos resíduos de tamarindo, os polifenóis são o principal grupo estudado e identificado. Os polifenóis são compostos orgânicos caracterizados pela presença de várias unidades estruturais de fenol encontradas em alimentos como frutas, vegetais, sucos e chás (GONZÁLEZ; MORALES; ROJAS, 2020). Entre os polifenóis, os flavonoides e as catequinas são abundantes na maioria dos alimentos utilizados na dieta diária da população. O composto tipicamente identificado nos resíduos de tamarindo, em especial na semente, é a epicatequina e suas variações estruturais (**Figura 4**). A epicatequina se destaca por suas funções biológicas, como atividades antimalárica, antiviral, antioxidante e anticarcinogênica (REKSHMYD'DHARAN; ROY, 2013). A capacidade antiproliferativa e a atividade antioxidante são atribuídas à posição dos grupos hidroxila na estrutura molecular da epicatequina (MURTHY et al., 2012; PRAKASH; BASAVARAJ; CHIDAMBARA MURTHY, 2019).

Figura 4- Estrutura química da epicatequina e suas variações estruturais.



Fonte: (BHADORIYA et al., 2011).

Tabela 2- Classes e compostos bioativos identificados em semente e casca de tamarindo.

Resíduo	Classe Química	Composto	Referência	
Semente	Polifenóis	(+)-catequina; (-)-epicatequina; procyanidina B2; procianidina tetramérica oligomérica (hexâmero de procianidina; trímero de procianidina; pentâmero de procianidina; arecatamina B1)	(SUDJAROEN et al., 2005; SINCHAIYAKIT et al., 2011; SOLE; SRINIVASAN; AKARTE, 2013; NAKCHAT; MEKSURIYEN; PONGSAMART, 2014; SUNDARAM et al., 2015)	
		Mirecetina; quercetina; kaempferol; ácido gálico; ácido clorogênico; ácido vanílico; ácido p-cumárico; ácido felúrico; ácido cafeico; cloranfenicol; ácido elágico; ácido cinâmico; luteolina; apigenina; isorhamnetina; taxifolina; morina; rutina; narigenina	(LUZIA; JORGE, 2011; RAZALI et al., 2015; SUNDARAM et al., 2015)	
	Ácidos graxos	Ácido 3-metil,etil butanóico; etil benzeno; o-Xileno; 3-metil 1-butanol; dodecano; 1,2,4-trimetil benzeno; decano; ácido 2-etilhexil oxálico; 1,2,3-trimetil benzeno; ácido palmítico; ácido 14-metil pentadecanóico; ácido hexadecanóico; ácido linoléico; ácido oléico; ácido cis vacênico; ácido cis-10-heptadecenóico; trans ácido 13 - octadecenóico; ácido 16-metil heptadecanóico; ácido esteárico; 17-cloro 7-heptadecino; etil 9-hexadecenoato; oleato de etila; ácido 3-metil butil pentadecanóico; 10,1-biciclo tridec-1-eno; tetratriacontano; ácido araquídico; ácido lignocérico; ácido beénico	(AJAYI et al., 2006; LUZIA; JORGE, 2011; REIS et al., 2016)	
		Polissacarídeos	Ramnose; arabinose; galactose; glicose; manose; xilose; frutose	(SHAO et al., 2019)
		Tocoferóis	α -tocoferol; p-tocoferol; γ -tocoferol; δ -tocoferol; vitamina E	(LUZIA; JORGE, 2011)
	Casca	Pigmentos	Leucoantocianidina; antocianina	(SHANKARACHARYA, 1998; RAO; MATHEW, 2012)
		Terpenos	Cantaridina	(SHIRISHA; VARALAKSHMI, 2016)
Polifenóis		(-)-epicatequina	(GANESAPILLAI; VENUGOPAL; SIMHA, 2017)	
Outros		Saponina; galactosil glicerol; ácido treo-isocítrico	(SONI; SINGH; SINGH, 2018)	

Fonte: Autor, 2022.

As proantocianidinas também são comumente identificadas no tamarindo, em especial proantocianidina B2, e são uma variação estrutural da epicatequina, que consistem em misturas de polímeros compostos de unidades monoméricas de flavan-3-ol (MUÑOZ-LABRADOR; PRODANOV; VILLAMIEL, 2019). Em alimentos, essas substâncias contribuem com as características organolépticas e com adstringência, amargura, acidez, viscosidade salivar, aroma e formação de cor (FRAGA; OTEIZA, 2011). As proantocianidinas também são responsáveis por alguns efeitos fisiológicos em seres humanos, como atividades cardiopreventiva, anti-inflamatória, antioxidantes antialérgica, antitrombótica, antibacteriana e anticarcinogênica (MUÑOZ-LABRADOR; PRODANOV; VILLAMIEL, 2019).

Os ácidos graxos são normalmente identificados na fração lipídica extraída da semente de tamarindo. Essas substâncias, dependendo do número de ligações duplas em sua cadeia molecular, são classificadas como saturadas, monoinsaturadas, polinsaturadas e insaturadas (combinação de ácidos graxos monoinsaturados e polinsaturados) (RUIZ-RODRIGUEZ; REGLERO; IBAÑEZ, 2010; BAUM et al., 2012). O consumo de ácidos graxos saturados e trans está associado a doenças cardíacas nas coronárias (BAUM et al., 2012). No entanto, certos ácidos graxos têm o potencial de serem utilizados como funcionais em alimentos e medicamentos, como os ácidos graxos insaturados (RUIZ-RODRIGUEZ; REGLERO; IBAÑEZ, 2010). Em estudo de extração, BANERJEE et al. (2017) demonstraram que a maior porcentagem de compostos em extratos de semente de tamarindo corresponde a ácidos graxos insaturados. Dentre estes, destaque especial é dado aos ácidos linoléico e oleico devido ao seu maior percentual na semente e a sua funcionalidade antioxidante e antimicrobiana (LUZIA; JORGE, 2011).

Outra classe de compostos amplamente encontrada na semente de tamarindo são os polissacarídeos. Cerca de 72% deste resíduo é formado por mucilagem/goma. As gomas são polissacarídeos, que após hidrólise produzem uma mistura de açúcares e ácidos urônicos, com capacidade de formar géis (MANCHANDA; ARORA; MANCHANDA, 2014). A goma da semente de tamarindo é constituída de monossacarídeos neutros como glicose, xilose, arabinose e galactose, bem como açúcares ácidos como o ácido urônico, normalmente detectado combinado com oligômero de xilose derivado da hidrólise dos xilanos (BHADORIYA et al., 2011).

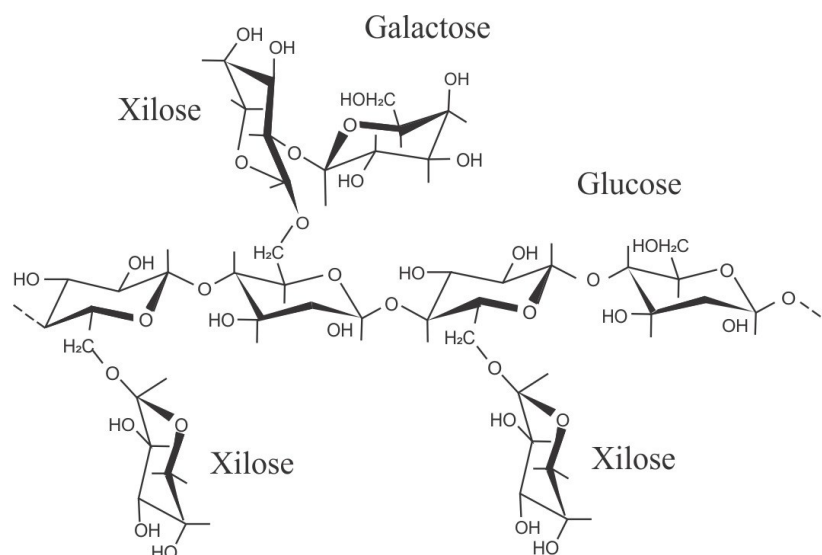
Polissacarídeos como glucanos, xiloglucanos, galactoxiloglucano e galactomananos foram extraídos anteriormente da semente de tamarindo. Ênfase especial é dada ao xiloglucano (XG), polissacarídeo majoritário deste subproduto. O XG normalmente é obtido a partir do extrato aquoso seguido de precipitação em solventes orgânicos ou álcoois. Na etapa de

precipitação ocorre a eliminação de impurezas (compostos indesejados como fenólicos e carboidratos neutros), devido a redução na constante dielétrica dos polissacarídeos, o que induz mudanças conformacionais, e permite que as moléculas se agreguem e precipitem, além de melhorar a purificação do polissacarídeo de interesse (LIU et al., 2016).

Em geral, o XG é formado de um esqueleto de β -(1 \rightarrow 4)-D-glucopirranose, que tem suas cadeias laterais parcialmente substituídas por moléculas de α -(1 \rightarrow 6)-D-xilopirranose e/ou β -(1 \rightarrow 2)-D-galactopirranose (JANA et al., 2013). A **Figura 5** mostra a estrutura geral do XG, que pode ter diferentes conformações estruturais a partir de alterações na posição da glicose (Glc), xilose (Xyl) e galactose (Gal) (GOYAL; KUMAR; SHARMA, 2007). De acordo com NGUYEN; JITTANIT; SRICHAMNONG (2019) existem três estruturas diferentes para unidades de repetição do xiloglucano de tamarindo: heptassacarídeo (Glc⁴Xyl³), octassacarídeo (Glc⁴Xyl³Gal) e nonassacarídeo (Glc⁴Xyl³Gal²).

As diferentes substituições na estrutura do XG estão associadas a sua estabilidade e funcionalidade industrial (DUTTA; GIRI; GIRI, 2020). Por exemplo, a diferença no grau de substituição da galactose afeta amplamente a solubilidade em água e o grau de associação entre as moléculas de XG, fato importante quando se considera as propriedades das soluções aquosas de XG e sua aplicação industrial (MISHRA, 2013).

Figura 5- Estrutura geral dos xiloglucanos (XG) identificados em semente de tamarindo.



Fonte: (GUPTA et al., 2010).

Estudos anteriores avaliaram as propriedades reológicas, químicas e físicas dos polissacarídeos da semente de tamarindo, mostrando suas atividades tecnológicas como base polimérica de baixo custo capaz de atuar como material de parede e ser aplicado na formação

de filmes (RODRIGUES et al., 2018) e cápsulas (ALPIZAR-REYES et al., 2020). Propriedades como alta viscosidade e adesão dos xiloglucanos contribuem para sua aplicação nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética, têxtil e de papel, especialmente como estabilizador de emulsão (GUPTA et al., 2010; MISHRA, 2013; NIE; DETERS, 2013; MENDES et al., 2017).

Dada a composição nutricional e química inerentes aos resíduos de tamarindo, sua atividade biológica pode variar de acordo com as cultivares e os fatores edafoclimáticos de cada país (MOHAMED; MOHAMED; AHMED, 2015). Assim, diferentes setores industriais podem usar resíduos de tamarindo como matéria-prima de baixo custo, agregando valor a cadeia produtiva.

2.3.2.2 Aplicação funcional dos resíduos de tamarindo

O tamarindo é utilizado culturalmente para fins medicinal e culinário, devido à sua composição bioativa e nutricional e aos seus requintados atributos de sabor (CALUWÉ; HALAMOVÁ; DAMME, 2010). As diferentes classes de substâncias associadas aos resíduos de tamarindo expandem sua aplicação a outras áreas além da indústria de alimentos. Na **Figura 6** estão apresentadas as principais áreas de aplicação de semente e casca de tamarindo, bem como as atividades funcionais e os compostos responsáveis por essa atividade.

Figura 6- Áreas de aplicação dos resíduos de tamarindo, bem como atividade funcional e compostos responsáveis por esta atividade.



Fonte: Autor, 2022.

Diante das diferentes aplicações dos resíduos de tamarindo, a viabilidade e a otimização da extração dos compostos responsáveis por cada uma dessas funções permitem o direcionamento das frações bioativas para diferentes formulações industriais (WANG et al., 2016), seja a partir do uso de processos isolados ou integrados como parte de uma biorrefinaria.

2.3.2.3 Extração de metabólitos ativos presentes em resíduos de tamarindo

Considerando a riqueza de fitoquímicos presentes nos resíduos de tamarindo, a escolha adequada do método de extração é essencial para manter a qualidade dos produtos recuperados e viabilizar suas aplicações. Diferentes métodos são relatados na literatura para a extração desses compostos. Nos últimos 10 anos diversos estudos têm sido realizados utilizando processos de extração para a recuperação de metabólitos da casca e da semente de tamarindo. A **Figura 7** resume os métodos de extração, a faixa das condições operacionais avaliadas e o

perfil químico de interesse nos estudos realizados até o presente momento com semente e casca de tamarindo.

Figura 7- Métodos de extração utilizados para a valorização de semente e casca tamarindo, bem como as condições operacionais avaliadas e o perfil químico de interesse.

SEMENTE	CASCA
Etanol, Etanol/Água, Água, Água acidificada 22 - 85 °C 24 h - 72 h Polifenóis, Polissacarídeos	Clorofórmio, Acetona, Água, Etanol, Etanol/Água 25 - 60 °C 20 min - 24 h Polifenóis
Etanol, Etanol/Água 20 - 60 °C 72 h Polifenóis, Alcalóides	Hexano, Metanol 48 h - 120h Polifenóis, Terpenos
Metanol, Acetona, Água, Éter de Petróleo 3 - 18 h Polissacarídeos, Lipídios	Água, Diclorometano 1 - 18 h Compostos fenólicos
Etanol e Acetato de Etila Potência _{MAE} 100 - 180 W Polifenóis	Etanol e Acetato de Etila Intensidade ultrassônica 40 e 60 % 5 min Polifenóis
CO ₂ e CO ₂ + Etanol 20 - 80 °C 4 - 5 h 10 - 24 MPa Ácidos graxos	
Água 100 - 200 °C 20 min e 0,1 MPa Polissacarídeos	

CHSE: Extração convencional por agitação a quente; MAC: Maceração; SOX: Soxhlet; MAE: Extração assistida por micro-ondas; UAE: Extração assistida por ultrassom; SFE: Extração com Fluido Supercrítico; SWE: Extração com Água Subcrítica.

Fonte: Adaptado de MARTINS et al., 2020

Os métodos de extração comumente usados para obter substâncias bioativas presentes nos resíduos de tamarindo são extração sólido-líquido, Soxhlet e maceração. A praticidade de operação, o baixo custo operacional e a eficácia desses métodos favorecem o seu uso como referência para estudos comparativos com métodos alternativos de extração e também para aplicação industrial (RODRÍGUEZ-SOLANA et al., 2014). Em grande parte dos estudos foi observado o uso de solventes orgânicos como hexano, clorofórmio, metanol e acetato de etila, que devido a sua toxicidade tem concentração mínima permitida em formulações de alimentos e medicamentos.

O uso de tecnologias verdes de extração é uma alternativa promissora, considerando as desvantagens relacionadas aos métodos de extração convencionais e a tendência ao processamento mais ecológico e de baixo impacto ambiental e econômico. Alguns desses métodos já foram utilizados para obter compostos bioativos presentes em resíduos do

tamarindo, por exemplo, o SFE foi usado para a recuperação de ácidos graxos (REIS et al., 2016), o MAE foi aplicado na obtenção de compostos fenólicos (GANESAPILLAI; VENUGOPAL; SIMHA, 2017) e o SWE para obtenção de polissacarídeos (LIMSANGOUAN et al., 2019). As vantagens e desvantagens desses métodos são abordadas em detalhes nas seções a seguir.

2.4 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

2.4.1 Extração convencional

O SOX é o método de extração convencional mais amplamente utilizado no meio acadêmico e industrial, sendo um método de referência para estudos comparativos com outros métodos de extração, devido aos bons rendimentos de produto final, ao baixo custo e fácil manuseio (RODRÍGUEZ-SOLANA et al., 2014). O SOX é baseado em uma extração sólido-líquido, na qual a matriz vegetal é permeada pelo solvente em múltiplos estágios de extração, obtendo-se ao final uma solução soluto-solvente multicomponente (PEREIRA; VIEIRA; MENDES, 2011).

A extração SOX por se tratar de um processo exaustivo, de baixa seletividade, demorado, e por utilizar grandes quantidades de solventes, como hidrocarbonetos, álcoois e cloroalcanos, pode apresentar riscos ambientais, além de degradação ou perda de compostos termolábeis durante o processo (BUBALO et al., 2018). Assim, devido a demanda por processos mais sustentáveis e ambientalmente amigáveis, com menor consumo de solventes orgânicos, métodos emergentes conhecidos como tecnologias verdes (*green technologies*), são propostos na literatura como uma alternativa ao SOX (HERRERO; IBÁÑEZ, 2018; BANOŽIĆ; BABIĆ; JOKIĆ, 2020).

2.4.2 Tecnologias verdes de extração

Os métodos de extração a alta pressão, SFE, PLE, SWE e MAE, são tecnologias verdes alternativas para superar alguns desafios/desvantagens atribuídas aos métodos convencionais, como o SOX.

2.4.2.1 Extração Fluido Supercrítico (SFE)

SFE é um processo baseado no contato da matriz a ser extraída com um fluido no estado supercrítico, que possui propriedades intermediárias entre o líquido e o gás (SHARIF et al., 2014; CRUZ et al., 2017). O fluido supercrítico pode ser utilizado industrialmente para uma ampla variedade de aplicações, desde a limpeza de equipamentos até a extração de compostos

e a formação de partículas (BRUNNER, 2010). O dióxido de carbono no estado supercrítico (scCO₂) é o fluido mais utilizado, pois este é seguro, não tóxico, não cancerígeno, não inflamável, inerte, facilmente disponível em um nível de pureza elevada e de baixo custo. O scCO₂ possui ainda baixa tensão superficial, baixa viscosidade com alta difusividade e condições críticas seguras de temperatura (31,1 °C) e pressão (7,38 MPa), que contribuem para o seu uso industrial e para a preservação dos compostos bioativos da matriz (HUANG; SHI; JIANG, 2012).

De acordo com KWAN; TU; ZIMMERMAN (2016) o scCO₂ é um excelente solvente para a extração de ceras e lipídios de plantas, devido a sua capacidade de dissolução de compostos pouco polares. Em geral, utilizando um processo simples com apenas scCO₂ e modificações de pressão e temperatura é possível extrair compostos pouco polares seletivamente, algo que não é comumente obtido em extração convencional com solventes orgânicos (ATTARD et al., 2018). No entanto, a baixa polaridade do scCO₂ dificulta a obtenção de compostos mais polares, como os compostos fenólicos, sendo necessário em alguns casos o uso de cosolventes, como o etanol por exemplo, ou a combinação entre diferentes processos de extração (GALLO et al., 2017).

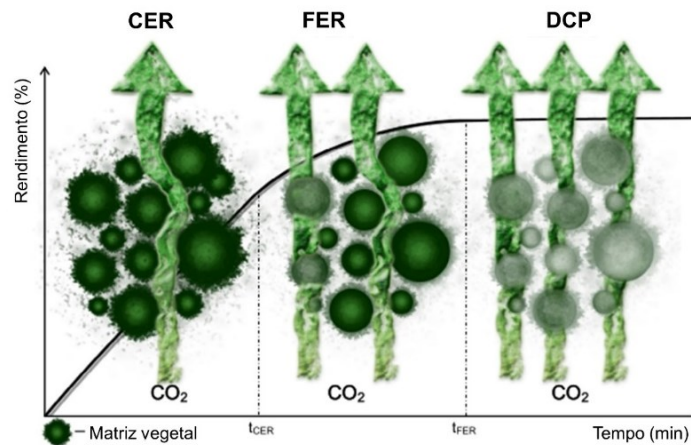
Além das características físico-químicas do scCO₂, o desempenho do sistema pode ser analisado previamente a partir de uma curva cinética de extração (CCE), que permite avaliar a viabilidade de aplicação do SFE e as condições mais seletivas para o processo. a qualidade dos extratos obtidos em SFE é influenciada diretamente pela variação dos parâmetros de temperatura e pressão, que influenciam na hidrodinâmica, na solubilidade e na densidade do fluido, conseqüentemente no rendimento e na qualidade do extrato (ZHAO; ZHANG, 2014; SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

2.4.2.1.1 Curva cinética de extração (CCE)

A curva global de extração (CGE) ou curva cinética de extração (CCE) é utilizada como etapa inicial em métodos de extração a alta pressão para otimizar o processo, de acordo com a relação do extrato bruto extraído (massa acumulada) *versus* o tempo de extração. Essa otimização é realizada a partir de conhecimentos termodinâmicos do processo, e pode ser dividida em três etapas, como mostra a **Figura 8**. A primeira etapa corresponde ao período de taxa constante, conhecida como CER (*Constant Extraction Rate*), na qual ocorre a transferência de massa por convecção de um soluto de fácil acesso, presente na parte externa do material, para o solvente (SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016). A segunda etapa é a FER (*Falling Extraction Rate*), período de taxa decrescente. Nesta fase, devido à exaustão da camada

externa da matriz superficial, falhas são formadas, permitindo que o processo de difusão do soluto interno prevaleça em relação a convecção da parte fluida, dessa forma o solvente penetra na matriz e solubiliza o soluto mais interno, possibilitando que este seja arrastado para a parte fluida (MAIA; ALICIEO, 2017). A terceira etapa é a DC (*Diffusion Controlled*), na qual ocorre um controle da taxa de transferência de massa, que é governada pela difusão do soluto mais interno (SOVOVÁ, 1994). Assim, de forma a otimizar o tempo de extração, de acordo com a maior obtenção dos solutos presentes na matriz de interesse, o processo deve ser composto das três etapas de extração (SOVOVÁ, 1994).

Figura 8- Representação da curva cinética de extração supercrítica (rendimento mássico de extrato versus tempo de extração). Etapas do processo (CER, FER e DC) e demonstração do arraste do soluto nas diferentes etapas.



Fonte: SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016

A CCE é comumente utilizada para o processo de extração com fluido supercrítico (SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016). No entanto, como foi demonstrado por MUSTAFA; TURNER (2011), as etapas CER, FER e DC também podem ser observadas em PLE, onde o processo começa com uma solubilidade controlada, seguida por uma fase equilibrada de difusão do soluto no meio fluido.

2.4.2.2 Extração Líquido Pressurizado (PLE)

Extração Líquido Pressurizado (PLE), também conhecido por Extração de Solvente Pressurizado ou Extração de Fluido Pressurizado pode ser realizado de forma dinâmica, quando o material é constantemente lavado pelo solvente, ou estática, quando o material vegetal é deixado imerso no solvente por um determinado tempo antes da extração (HERRERO et al., 2013). De acordo com MUSTAFA; TURNER (2011), temperatura, tempo e tipo de solvente são os principais fatores operacionais que alteram os resultados obtidos em PLE. A elevada

temperatura (até 200 °C), por exemplo, melhora a solubilidade dos compostos e a cinética de dessorção da matriz, melhorando o rendimento de extrato (PRONYK; MAZZA, 2009; MUSTAFA; TURNER, 2011). No entanto, quando se trata de compostos bioativos, o aumento de rendimento pode não estar relacionado com a atividade biológica de interesse, além da possibilidade de degradação de compostos em elevada temperatura (BALLESTEROS-VIVAS et al., 2020). A alta pressão permite que o solvente permaneça em estado líquido, mesmo quando sua temperatura está além do seu ponto de ebulição (WIANOWSKA; GIL, 2019). Além de resultar em ruptura da parede celular, devido a pressão exercida sobre a matriz, o que melhora a transferência de massa do soluto da amostra para o solvente (HERRERO et al., 2013). Apesar da influência da pressão no processo, esta não é tida como um fator variável, pois o seu efeito na recuperação da maioria das substâncias naturais é geralmente desprezível (MUSTAFA; TURNER, 2011).

Os custos em escala industrial para a aplicação do PLE ainda são elevados (DAI; MUMPER, 2010), bem como em outros métodos a alta pressão. Mas, em comparação ao Soxhlet, o PLE destaca-se por ser um método eficiente, rápido e prático. Além de possibilitar o uso de solventes geralmente reconhecidos como seguros, do inglês *Generally Recognized as Safe* (GRAS), como etanol, água e/ou a combinação entre eles (MACHADO et al., 2015; WIANOWSKA; GIL, 2019). Apesar de apresentar índice de polaridade intermediário (7,1) em relação ao etanol (5,2) e a água (9,0), o solvente etanol-água geralmente fornece elevados rendimentos em comparação aos solventes individuais (MARKOM et al., 2007; WIANOWSKA; GIL, 2019). A mistura hidroalcoólica, em determinadas matrizes aumenta a eficiência de extração, uma vez que a parte alcoólica pode melhorar a solubilidade do soluto, enquanto que a parte aquosa aumentaria a dessorção do soluto, devido a sua atuação na quebra da matriz e na ligação matriz-soluto (hidrogênio) (MUSTAFA; TURNER, 2011). Assim, devido a ação sinérgica dos solventes associada as condições operacionais de PLE, uma ampla classe de compostos, desde componentes muito polares (como açúcares ou proteínas) até compostos intermediários/pouco polares (como carotenoides e lipídios) podem ser extraídos (HERRERO; GALLEGO, 2019). É importante ressaltar que nos processos em que a água pura é usada como solvente, o método pode ser chamado de Extração de Água Quente Pressurizada (PHWE), e quando sua temperatura é superior a 100 °C, é chamado de Extração com Água Subcrítica (SWE) ou extração com água superaquecida (MUSTAFA; TURNER, 2011).

2.4.2.3 Extração Água Subcrítica (SWE)

Na extração água subcrítica (SWE), a água permanece no estado líquido, mesmo estando acima do seu ponto de ebulição, quando submetida a pressão (0,1–22,1 MPa) e temperatura entre 100 °C (ponto de ebulição da água) e 374 °C (ponto crítico de água) (HERRERO et al., 2013; ZHANG et al., 2020).

A água, por ser um solvente ambientalmente amigável, abundante e facilmente acessível, torna o SWE um processo de elevada relevância ambiental (ZHANG et al., 2020). SWE foi eficientemente utilizado para a extração de polissacarídeos, pectinas, proteínas, polifenóis, óleos essenciais e fibras dietéticas provenientes de diferentes fontes naturais (ZHANG et al., 2020). A viabilidade de extração dessa ampla faixa de metabólitos se deve a alteração da constante dielétrica (polaridade) (ϵ) da água, que em condição ambiente (25 °C/0,1 MPa) corresponde a $\epsilon=80$, mas em sistema pressurizado (20 MPa) e variação da temperatura entre 100-200 °C reduz para $\epsilon=55-35$, semelhante a constante dielétrica de solventes orgânicos, como etanol ($\epsilon=24$) e metanol ($\epsilon=33$) em condições ambiente (HERRERO; GALLEGU, 2019). Essa modificação possibilita a recuperação de compostos moderadamente polares e não polares (HAGHIGHI; KHAJENOORI, 2013). Em condições moderadas de temperatura (próximo a 100 °C), compostos mais polares e com alta solubilidade em água podem ser obtidos (HERRERO et al., 2013). Dependendo da matriz e dos compostos de interesse, temperaturas elevadas são mais apropriadas, devido ao aumento da taxa de difusão e da diminuição na viscosidade do solvente e na tensão superficial da matriz celular (PLAZA; LUISA, 2019).

Apesar da eficácia na extração de diferentes substâncias, a água no estado subcrítico pode ocasionar a instabilidade de alguns solutos em temperaturas elevadas (HAGHIGHI; KHAJENOORI, 2013). As condições de SWE podem também limitar a extração de determinadas matrizes vegetais, como aquelas ricas em carboidratos ou outros compostos mais viscosos, que formam uma rede polimérica impedindo que o solvente penetre na matriz e acesse o soluto interno (HERRERO et al., 2013). Uma solução para essas desvantagens é o uso de água acidificada em condições mais brandas de temperatura ou a combinação de processos, sendo o SWE utilizado após extrações alcoólicas, por exemplo (MUSTAFA; TURNER, 2011). Modificadores orgânicos e inorgânicos, surfactantes e aditivos, quando combinados com a água também podem melhorar a solubilidade dos compostos de interesse, além de atuarem na quebra da parede celular e na dessorção dos analitos da matriz, e conseqüentemente melhorar a eficiência da extração (PLAZA; LUISA, 2019).

A extração com água no estado subcrítico também pode ser obtida em um processo utilizando energia de micro-ondas, que assim como em SWE é realizado em vaso extrator

fechado, no qual é possível ajustar as condições de pressão e temperatura para o estado subcrítico (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). A diferença entre os extratos obtidos nesses métodos está relacionada a fenomenologia envolvida em cada processo, sendo assim interessante o estudo e a avaliação dos extratos obtidos em ambas as técnicas (PLAZA; LUISA, 2019).

2.4.2.4 Extração Assistida por Micro-ondas (MAE)

A extração assistida por micro-ondas (MAE) é um método bem consolidado no campo industrial e acadêmico, que se baseia no aquecimento do solvente por aplicação de energia de micro-ondas (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015; EKEZIE; SUN; CHENG, 2017). As micro-ondas são radiações do espectro eletromagnético que variam em frequência de 300 MHz - 300 GHz, e comprimentos de onda entre 1mm a 1 m (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). O mecanismo de aquecimento em MAE é decorrente da rotação de dipolo e da condução iônica que ocorrem no sistema, e que varia de acordo com a frequência e com a viscosidade do solvente (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). Esse mecanismo permite um aquecimento interno e homogêneo em todo o volume da matriz, intensificando a agitação das moléculas intracelulares (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017). Assim, a temperatura e a pressão no interior da célula aumentam para níveis que resultam na quebra da parede celular, liberando compostos internos, e conseqüentemente, melhorando a eficiência da extração (MENA-GARCÍA et al., 2019).

Em estudo de revisão, CARDOSO-UGARTE et al. (2014) reportaram a eficiência do MAE em obter polifenóis, incluindo flavonoides (flavona, isoflavonas, catequinas, flavanonas e derivados do ácido cinâmico), antocianinas, carotenoides, entre outros compostos de diferentes matrizes vegetais. A seletividade desses compostos em MAE pode ser associada as condições de temperatura, razão solvente-matriz, e principalmente ao solvente utilizado no processo (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). Solventes com alta constante dielétrica, ou seja, de maior polaridade, como água, etanol e metanol são comumente utilizados em MAE, devido a sua capacidade em absorver energia eletromagnética e convertê-la em calor (DESTANDAU; MICHEL; ELFAKIR, 2013). As propriedades dielétricas dos solventes dependem da temperatura, da frequência e da potência, que vão definir a taxa de aquecimento do sistema (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017). A partir da otimização desses fatores que interferem em MAE, vantagens como a redução do tempo de extração, do consumo de solvente e da energia podem ser alcançadas (LLOMPART; CELEIRO; DAGNAC, 2019).

Em resumo, os diferentes métodos de extração a alta pressão possuem vantagens e desvantagens, que podem ser contornadas a partir de modificações nos parâmetros do processo ou pela associação com outras tecnologias, atuando de forma eficiente na obtenção dos compostos de interesse. No entanto, dentro da linha de reaproveitamento de resíduos agroindustriais, não basta que o processo seja ambientalmente amigável e seletivo, os extratos obtidos devem ser seguros, de qualidade e ter funcionalidade (CHEMAT et al., 2019). Assim, após a etapa de extração, uma etapa de caracterização físico-química, química, biológica e citotóxica desses extratos é essencial para a conversão dos extratos em subprodutos.

2.5 CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

2.5.1 Conteúdo fenólico total (TPC)

Dentre os compostos bioativos mais abundantes em frutas e vegetais encontram-se os compostos fenólicos, identificados por exemplo, em semente de mamão (CASTRO-VARGAS et al., 2019), bagaço de acerola (MARQUES et al., 2018), casca de maracujá (COELHO et al., 2018) e semente de tamarindo (REIS et al., 2016). Devido a elevada concentração dessas substâncias, bem como sua ação benéfica à saúde, o grupo dos compostos fenólicos são amplamente extraídos e avaliados em extratos de resíduos agroindustriais (FREITAS et al., 2021).

O compostos fenólicos podem ser encontrados conjugados à matriz vegetal ou de forma livre, compreendendo principalmente estruturas polimerizadas ou monoméricas (ALARA; ABDURAHMAN; UKAEGBU, 2021). De acordo com CRAFT et al. (2012) os fenólicos podem ser subclassificados em: ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, isoflavonoides, estilbenos, lignanas e fenólicos poliméricos. Normalmente, o conteúdo de compostos fenólicos totais (TPC) é estimado nos extratos utilizando um ensaio colorimétrico com reagente Folin-Ciocalteu.

O reagente Folin-Ciocalteu é formado por sais de molibdênio e tungstênio, que em meio alcalino e na presença de agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam um complexo de molibdênio-tungstênio de coloração azul (CRAFT et al., 2012). A intensidade da cor no meio de reação é diretamente proporcional ao número de hidroxilas ou substâncias redutoras, já que este ensaio é baseado na transferência de elétrons e mede a capacidade de redução do extrato (MARGRAF et al., 2015). O complexo metálico formado na reação tem absorção no comprimento de onda entre 620 e 760 nm, que dependerá da composição qualitativa e/ou quantitativa da mistura fenólica e do pH da solução, geralmente ajustado pela adição de carbonato de sódio (CICCO et al., 2009).

Os compostos fenólicos desempenham diferentes funções biológicas nas plantas, em especial atividade antioxidante, devido à presença de hidroxilas e anéis aromáticos na sua estrutura química (ANGELO; JORGE, 2007). Por esta razão, em extratos vegetais, dentro de um conjunto de condições operacionais, os compostos fenólicos têm forte associação com a atividade antioxidante (CRAFT et al., 2012). No entanto, ensaios espectrofotométricos *in vitro* são aplicados aos extratos para investigar se os compostos fenólicos totais quantificados podem ser associados a esta atividade. Tradicionalmente são realizados ensaios a partir da eliminação do radical 1,1-difenil-2-picrilhidroxil (DPPH), e do radical 2,2'-azino-bis (3-ensaio do ácido etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS), e da redução do íon férrico (FRAP) (SINCHAIYAKIT et al., 2011; MAITI; DE; GHOSH, 2018).

2.5.2 Capacidade antioxidante de extratos vegetais

Os ensaios de capacidade antioxidante, utilizados para caracterizar extratos vegetais, medem a capacidade de um composto antioxidante em se ligar a radicais livres. Esses ensaios são classificados de acordo com seu mecanismo de ação, sendo estes baseados na transferência de átomos de hidrogênio (HAT), transferência simples de elétrons (SET) ou de forma mista (HAT/SET) (CRAFT et al., 2012).

2.5.2.1 Ensaio de eliminação do radical DPPH

O ensaio de eliminação do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) é um dos principais ensaios utilizados para determinar a capacidade antioxidante de diferentes matrizes naturais, tais como frutas, vegetais, plantas medicinais, cogumelos e algas (SUN; YANG; TSAO, 2018). Este ensaio tem como referência o estudo proposto por BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET (1995), no qual a reação com o DPPH foi adaptada para medir a cinética de eliminação do radical a partir de um mecanismo misto (HAT/SET).

O ensaio DPPH é de baixo custo, simples e amplamente utilizado em laboratórios e indústrias, devido sua capacidade de reagir com uma variedade de compostos, incluindo aminoácidos aromáticos, glutatona, α -tocoferol, ácido ascórbico e aromáticos polihidroxilados (fenólicos) (CRAFT et al., 2012). Diferentes variações da metodologia deste ensaio são propostas na literatura (SUN; YANG; TSAO, 2018). No procedimento mais comum, os cristais de DPPH são geralmente dissolvidos em etanol ou metanol formando uma solução roxo-escuro, visível no comprimento de onda de 517 nm (STAŠKO et al., 2007). Esta solução é incubada junto ao composto antioxidante, e o radical DPPH[•] é reduzido à DPPH₂, sendo possível observar uma descoloração da solução roxo-escuro para a cor amarelada.

Normalmente, os resultados deste ensaio são expressos em IC_{50} , ou seja, concentração total de antioxidantes necessária para reduzir a absorvância inicial de DPPH[•] em 50%. No entanto, o IC_{50} não é um parâmetro suficientemente objetivo para correlacionar resultados entre diferentes ensaios, quando se compara resultados obtidos com os padrões mais comuns como ácido ascórbico e BHT, por exemplo. Assim, os resultados de DPPH também podem ser expressos de acordo com a concentração equivalente de Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetetil-croman-2-carboxílico) (TEAC), o que permite uma melhor correlação a outros ensaios de antioxidante (APAK; CAPANOGLU; SHAHIDI, 2018).

2.5.2.2 Ensaio de captura do radical ABTS^{•+}

A avaliação da capacidade antioxidante de extratos vegetais utilizando o radical ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) é classificada, de acordo com o mecanismo de reação, como um método misto (HAT/SET). Este mecanismo se deve ao radical catiônico, que atua como sonda colorimétrica, aceitando átomos de hidrogênio ou de elétrons fornecidos por compostos antioxidantes (SUN; YANG; TSAO, 2018).

O radical ABTS^{•+} de coloração verde-azulado é formado a partir de agentes oxidantes, como o persulfato de potássio e o dióxido de manganês sólido (MnO₂) (THAIPONG et al., 2006; SU et al., 2007). A capacidade antioxidante neste ensaio é medida pela capacidade do composto antioxidante em reagir com o radical ABTS^{•+} alterando a coloração da solução para verde claro (APAK et al., 2016a). Este radical catiônico tem absorção em comprimentos de onda (λ), mas o $\lambda = 734$ nm é a escolha mais adequada para quantificação expressa em TEAC, devido a uma ampla faixa de detecção dos compostos, incluindo aqueles de baixa absorvância, como carotenoides, polifenóis ou seus produtos de oxidação (APAK et al., 2016a).

APAK et al. (2016b) destacaram diferentes críticas ao ensaio ABTS/TEAC, relacionadas com o método utilizado para formar o ABTS^{•+}, o tempo adequado de resfriamento do radical (especialmente para antioxidantes de reação lenta), o envelhecimento e armazenamento prolongado do radical, os compostos antioxidantes presentes na amostra (quinonas, por exemplo), e a escolha do solvente de diluição do radical. Mas, em geral, a avaliação da capacidade antioxidante utilizando o ensaio de ABTS é eficaz e oferece vantagens que contribuem para sua aplicação em diferentes matrizes vegetais (RE et al., 1999), já que o ABTS^{•+} é solúvel em solventes aquosos e orgânicos, e permite a detecção de compostos hidrofílicos e lipofílicos (PELLEGRINI et al., 2003).

2.5.2.3 Ensaio de redução do íon férrico (FRAP)

O ensaio FRAP é classificado, de acordo com o mecanismo de reação, como um método de transferência simples de elétrons (SET). Este ensaio é baseado na redução do íon férrico (Fe^{3+}) em íon ferroso (Fe^{2+}) a partir da doação de elétrons de compostos antioxidantes em um meio de reação com potencial redox (APAK et al., 2016b). Como sinal ou indicador da reação, o sal férrico de coloração amarelo claro, muda para azul, quando reduzido a sal ferroso, e a mudança é cronometrada na absorvância de 593 nm (BENZIE; DEVAKI, 2018). O FRAP é um ensaio manual simples, rápido e de baixo custo, sendo ideal para avaliar a capacidade antioxidante de extratos que possuem em sua composição compostos como ácido ascórbico, α -tocoferol (vitamina E), ácido úrico, bilirrubina e compostos polifenólicos, como catequinas e outros flavonóides (BENZIE; STRAIN, 1996a; BARTOSZ, 2010).

2.5.3 Análise colorimétrica

A análise colorimétrica é de fundamental importância para caracterizar extratos vegetais e direcioná-los na aplicação industrial, uma vez que a cor é um atributo decisivo na preferência e escolha do consumidor (ZIELINSKI et al., 2021). Dentre os diferentes métodos colorimétricos utilizados para avaliação da cor, o uso de colorímetro associado ao sistema CIELAB se destaca por ser uma técnica não destrutiva, de fácil manipulação e semelhante a visibilidade do olho humano (HUNT; POINTER, 2011). O sistema CIELAB classifica os parâmetros de cor em luminosidade ($L^* - 100 = \text{branco}$, $0 = \text{preto}$), coordenada a^* [$(-) = \text{verde}$ / $(+) = \text{vermelho}$] e coordenada b^* [$(-) = \text{azul}$ / $(+) = \text{amarelo}$] (HUNT; POINTER, 2011; MCGRATH; BECK; JR, 2017). Padrões de cores estão associados à qualidade dos extratos, podendo ser correlacionados a presença de um perfil químico específico, como pigmentos (ZIELINSKI et al., 2021). A semente de tamarindo, por exemplo, possui em sua composição pigmentos como leucoantocianidina e antocianina de coloração marrom avermelhado, anteriormente extraídos juntamente com taninos e utilizado como corante natural na pigmentação de lã, destinada para aplicação farmacêutica, bem como corante alimentar vermelho natural (RAO; MATHEW, 2012; PRABHU; TELI, 2014).

Além dos taninos, os pigmentos da semente de tamarindo, que se concentram na casca escura que a envolve, também podem ser recuperados associados a compostos fenólicos e polissacarídeos, a partir de extrações com etanol, etanol aquoso e água (SINCHAIYAKIT et al., 2011). Dessa forma, quando o objetivo industrial são as frações bioativas, a determinação dos parâmetros de cor dos extratos é um fator qualitativo importante, uma vez que, de acordo com a aplicação, extratos de coloração intensa podem ser indesejáveis. O xiloglucano da

semente de tamarindo, por exemplo, é o principal produto comercial recuperado desse subproduto, sendo preferencialmente extraído a partir de sementes decorticadas para que um produto de coloração clara e de maior pureza possa ser obtido, e conseqüentemente de maior versatilidade para diferentes aplicações (CRISPÍN-ISIDRO et al., 2019). Além da cor, análises das propriedades físicas e estruturais do xiloglucano são necessárias para avaliação das suas propriedades tecnológicas.

2.5.4 Propriedades físicas e estruturais do xiloglucano (XG)

O XG da semente de tamarindo, como foi destacado na Seção 2.3.2.1, apresenta propriedades físico-químicas e reológicas interessantes para a indústria alimentícia, química, farmacológica e cosmética, podendo ser aplicado como aditivo alimentar, agente espessante, estabilizante e gelificante (DUTTA; GIRI; GIRI, 2020). Essas aplicações são confirmadas a partir de estudos de caracterização das propriedades físicas e estruturais desse polissacarídeo.

A partir da análise de espectros de FT-IR (infravermelho de transformada de Fourier), por exemplo, os grupos funcionais presentes em extratos polissacarídicos (gomas) são detectados, confirmando a presença de carboidratos específicos, como o XG. A aplicação de diferentes condições de extração pode alterar quimicamente os polissacarídeos, o que reflete na presença de diferentes grupos funcionais, confirmados pelos espectros de FT-IR. Estudos da literatura relataram que as bandas de absorção do FT-IR para atribuição de XG do tamarindo podem corresponder a vibração de estiramento -HC-O de glucopiranosil ($1018,53 \text{ cm}^{-1}$), estiramento assimétrico -C-O-C de xilopiranosil ($1148,12 \text{ cm}^{-1}$), vibração de estiramento de hidroxila (O-H) (3411 cm^{-1}), vibração de estiramento do grupo metileno (C-H) (2897 cm^{-1}), presença de grupos carbonil ou ácido carboxílico (C=O) (1374 e 1647 cm^{-1}), de D-galactopiranosose (897 cm^{-1}) e D-glucopiranosose (944 cm^{-1}) (PRIYADARSHINI et al., 2016; SHAO et al., 2019).

Uma análise mais refinada das gomas, para a identificação dos grupos funcionais presentes, pode ser realizada em ressonância magnética nuclear (NMR). RODRIGUES et al. (2018), após caracterização de XG do tamarindo para aplicação em filmes alimentícios, confirmaram, a partir de espectros de NMR, a presença de unidades β -D-galactopiranosose, β -D-glucopiranosose e α -D-xilopiranosose, representadas por sinais específicos de carbono anomérico δ 104, 102 e 98, respectivamente, indicando a razão de Galactose: Xilose: Glicose de 1: 2,43: 2,78, após integração dos sinais de ^1H e ^{13}C .

Análises térmicas, como a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e a termogravimétrica (TGA), são realizadas no XG para avaliar sua capacidade térmica dentro de

uma faixa de temperatura, apontando a condição térmica de degradação e estabilização do polímero. A partir do DSC é possível verificar a quantidade de calor absorvida ou emitida pelo polímero, determinando as temperaturas em que ocorrem processos exotérmicos ou endotérmicos (DE PAOLI, 2008). A variação de massa ocasionada pela perda ou ganho nos processos observados em DSC, pode ser confirmada por meio da análise de TGA, que fornece essa variação em função da temperatura (com rampa de aquecimento) ou do tempo (medida isotérmica) (DE PAOLI, 2008). ALPIZAR-REYES et al. (2017) reportaram, a partir de espectros de DSC, especialmente um evento exotérmico com pico médio de 310 °C e perda de massa de 51%, indicando que o XG do tamarindo é altamente termoestável, podendo ser incorporado em diferentes processos industriais, desde a formação de biomateriais até a produção de alimentos processados.

2.6 CONSIDERAÇÕES A RESPEITO DO ESTADO DA ARTE

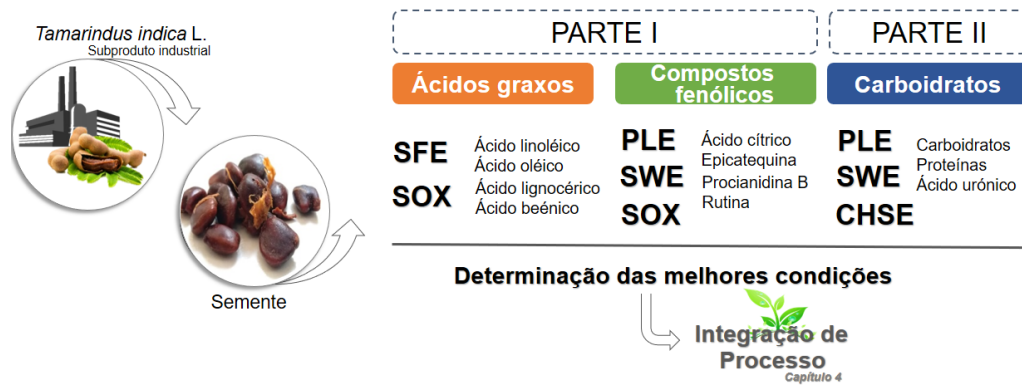
Com base nos componentes bioativos dos resíduos de tamarindo, que foram relatados neste capítulo, seus extratos têm potencial aplicação em processos alimentícios, químicos ou farmacêuticos, e/ou podem retornar à cadeia de processamento do tamarindo (fechando o ciclo), contribuindo para o tratamento de efluentes, por exemplo.

Compostos-alvo podem ser recuperados por meio de métodos únicos ou integrados, conforme foi proposto em outros estudos (MAZZUTTI et al., 2018; FERRO et al., 2019). Apesar da importância desta etapa e dos desafios de cada método, quando as extrações são realizadas corretamente (otimizadas), altos rendimentos do processo e qualidade do extrato podem ser alcançados, para adequada utilização futura. Mas poucos estudos de otimização desses processos são relatados na literatura para os resíduos de tamarindo.

A etapa de extração de metabólitos ativos dos subprodutos de tamarindo apresenta lacunas que necessitam de maiores investigações, no que se refere ao uso de métodos ambientalmente amigáveis, solventes GRAS e estratégias de biorrefinaria integradas, que contemplem rotas de processamento adequadas para cada resíduo, o que pode ser a base para o ciclo industrial do tamarindo e sua viabilidade industrial.

CAPÍTULO 3

Valorização da semente de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) por métodos a alta pressão para obtenção de diferentes frações bioativasⁱⁱ



MARTINS, C. M. et al. Valorization of tamarind seeds using high-pressure extraction methods to obtain rich fractions in fatty acid and phenolic compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, p. 105556, fev. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844622000419>>.

3.1 INTRODUÇÃO

A semente de tamarindo, como foi abordado no **Capítulo 2**, é um subproduto rico em ácidos graxos e fenólicos, que possuem propriedades antioxidante, antidiarreica e anti-inflamatória (WAQAS et al., 2015; GUPTA; GUPTA, 2017). O uso da semente se destaca ainda na aplicação em emulsões, embalagens e encapsulamento de fármacos, devido sua rica composição de polissacarídeos estruturais (RODRIGUES et al., 2018; SANTOS et al., 2019a).

Soxhlet e maceração são os métodos amplamente relatados na recuperação de compostos bioativos da semente de tamarindo (CHUNGLOK et al., 2014; CVETANOVIĆ et al., 2020). No entanto, apresentam desvantagens como alto consumo de solventes orgânicos, baixa seletividade e degradação de compostos termolábeis (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012; MARENDA et al., 2019). Assim, visando melhorar a extração das frações apolar (lipídica) e polar (fenólica), na **PARTE I** deste capítulo, métodos de extração a alta pressão, como SFE, PLE e SWE foram aplicados à semente de tamarindo. A comparação entre os métodos a alta pressão e o Soxhlet, tradicionalmente utilizado, foi realizada por meio do rendimento global. Os extratos foram caracterizados quanto ao conteúdo fenólico total e a capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP). O perfil de ácidos graxos e compostos fenólicos foi identificado por GC-MS e UPLC-QTOF-MS^E, respectivamente para as frações apolar e polar. Na **PARTE II**, com foco na fração polissacarídica, foi abordada a caracterização química geral (carboidratos totais, ácido urônico e proteínas totais) dos extratos aquosos selecionados na PARTE I, frente à extração convencional de CHSE. Em seguida, foi avaliada a extração e a caracterização (rendimento, cor) da goma da semente de tamarindo.

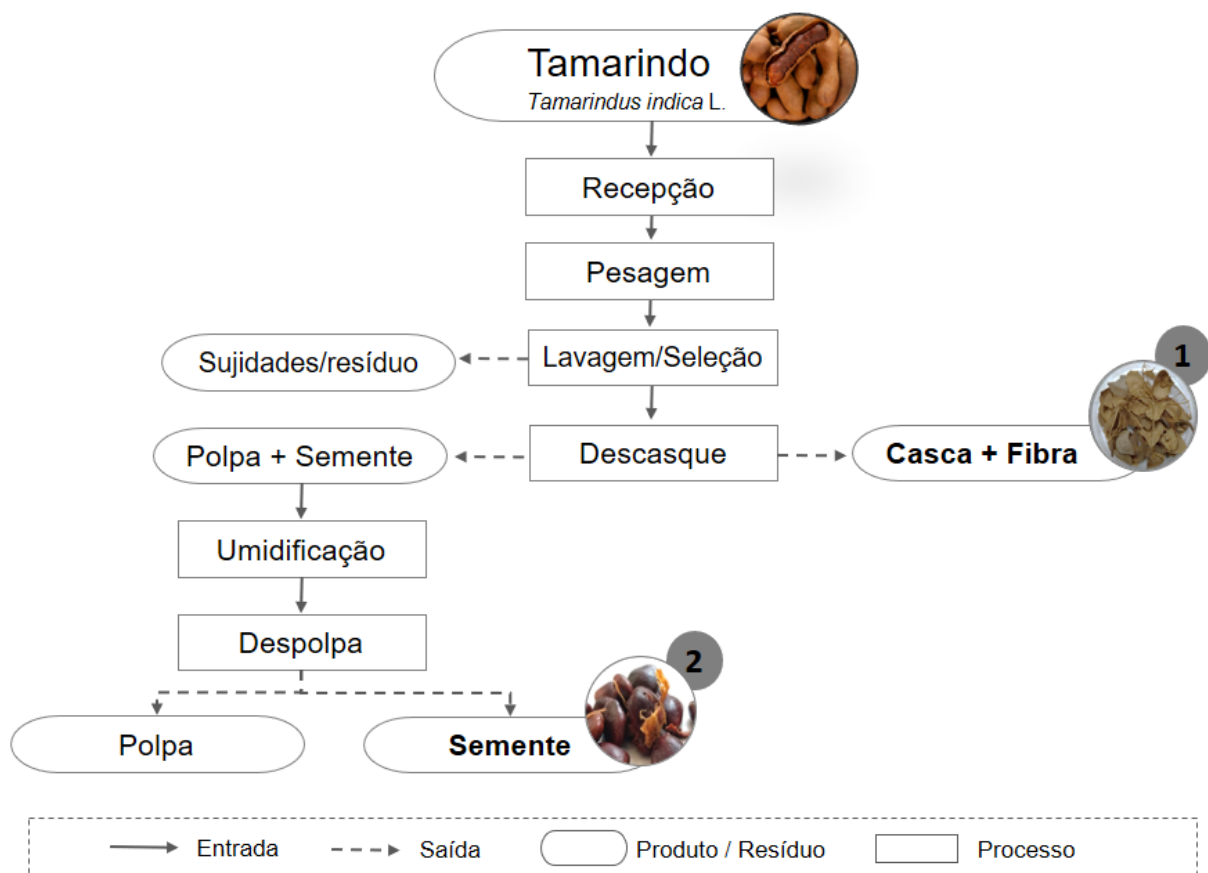
3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Caracterização da matéria-prima

O fruto foi adquirido em janeiro de 2019 na Tamarindo do Brasil Agroindustrial Ltda. (Pacajus, CE, Brasil). O processamento para a obtenção dos resíduos foi realizado no Laboratório de Processamento de Alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza, CE, Brasil). A **Figura 9** apresenta o fluxograma de processamento do tamarindo. Basicamente, casca e fibra foram manualmente retiradas e as vagens contendo polpa e semente foram direcionadas para o despulpamento. Em seguida para realizar o despulpamento, os utensílios foram higienizados com água clorada 2% e o fruto deixado imerso em água mineral por duas horas em uma proporção de 2:1 de água para fruto. A despulpa foi realizada em despulpadeira (Bonina modelo 0.25 dF) com malha de 2,5 mm e batedores rotativos. Após o processamento,

a semente envolta de vestígios de polpa foi lavada duas vezes com água destilada, e posteriormente seca em estufa de circulação e renovação de ar (De Leo, Porto Alegre, Brasil), a 60 °C por 8h. Esta condição de secagem foi determinada com base em outros estudos com resíduos de tamarindo (JANGDEY et al., 2016; SARKAR; GHOSH, 2016; GUPTA; GUPTA, 2017). Após a secagem, a semente foi moída em moinho de facas (Marconi/De Leo, Porto Alegre, Brasil) com malha de 2 mm e armazenada em pote hermeticamente fechado a -18 °C até posterior determinação do tamanho médio de partícula.

Figura 9- Fluxograma de processamento da polpa de tamarindo e os resíduos gerados neste processo.



Fonte: Autor, 2022.

3.2.1.1 Determinação do diâmetro médio de partícula

O diâmetro médio das partículas foi determinado de acordo com equações propostas por Gomide (1980). Para a obtenção dos dados foi utilizado agitador de peneiras de série Tyler no Laboratório de Controle e Processos de Polimerização (LCP) da UFSC. A amostra (100 g) foi disposta em peneiras de tamanhos 18, 20, 35, 45, 60 e 70 Mesh e agitada por 30 min. Em

seguida, as frações retidas em cada uma das peneiras foram pesadas e aplicadas nas **Equações 1 e 2**.

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

$$\Delta l_i = \frac{m_i}{M} \quad (2)$$

Nas quais, d_s é o diâmetro médio superficial das partículas (mm), m_i é a massa de amostra retirada na peneira (g), M é a massa total de amostra (g), d_i é o diâmetro da peneira (mm) e n é o número total de frações.

3.2.1.2 Composição proximal

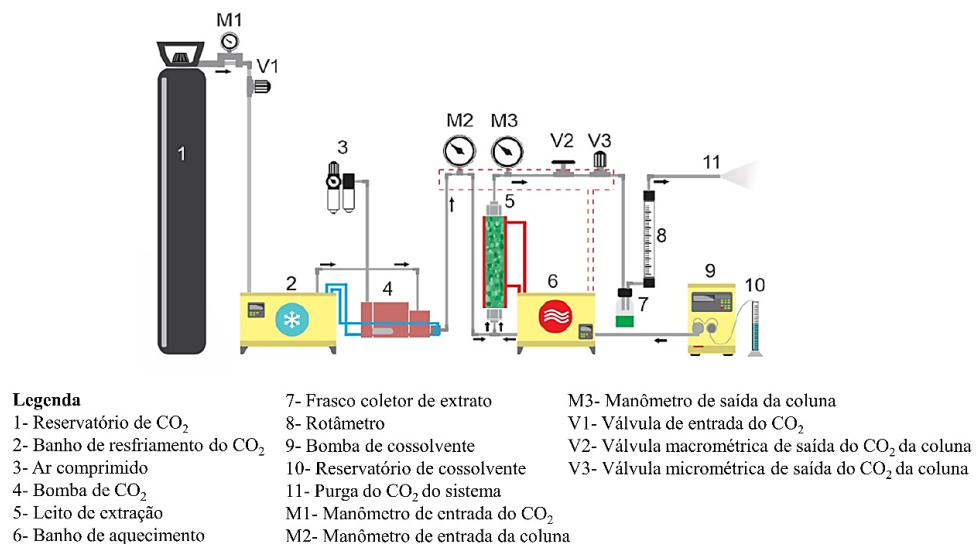
O teor de umidade da semente de tamarindo foi determinado por diferença gravimétrica, como descrito no método AOAC 925.40 (AOAC, 1925). Basicamente, o material úmido foi deixado em estufa de circulação e renovação de ar a 105 °C por 8 h, quando foi atingido peso constante. O teor de cinzas foi determinado pela incineração do material em mufla a 550 °C, como descrito no método AOAC 923.03 (AOAC, 1997). O teor lipídico foi determinado de acordo com o método AOAC 920.39 C (AOAC, 2000) em extrator Soxhlet com fluxo contínuo de hexano por 6 h em, em seguida, o extrato foi seco em estufa a 105 °C, até peso constante. O teor de nitrogênio foi determinado pelo método Kjeldahl (AOAC, 2000) empregando-se fator 6,25 para a conversão deste em proteína. O teor de fibra bruta foi determinado de acordo com o método enzimático-gravimétrico AOAC 962.09 (AOAC, 2010), a partir da digestão sequencial de ácido sulfúrico, seguido de hidróxido de sódio. O teor de carboidratos totais foi determinado por diferença, subtraindo de cem os valores obtidos nas análises de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e fibras totais. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em gramas por 100 g de material seco ($g \cdot 100 g^{-1} m.s$).

3.2.2 Processos de extração

3.2.2.1 Extração com Fluido Supercrítico (SFE)

A extração com fluido supercrítico (SFE) foi realizada em uma unidade construída no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica da Universidade Federal de Santa Catarina (LATESC/UFSC), com descrição completa apresentada em trabalhos anteriores (MAZZUTTI et al., 2018; FERRO et al., 2019). A unidade opera com pressão de até 30 MPa e vazões de solvente de até $2,2 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}$. O extrator SFE e os equipamentos que o compõem estão apresentados na **Figura 10**.

Figura 10- Unidade de extração para o processo SFE.



Fonte: FERRO et al., 2019

No início do processo, o cilindro de CO₂ é aberto e o gás segue para o banho termostático frio ($-5 \text{ }^\circ\text{C}$) contendo etilenoglicol (2), o que garante que o CO₂ esteja em estado líquido ao entrar na bomba. Após uniformidade na pressão dos manômetros, (M1 e M2), e mantendo fechadas V2 e V3, a bomba de CO₂ (4) é acionada e regulada até a pressão de trabalho. Após ajuste do M3 na pressão desejada, a válvula V2 é o CO₂ pressurizado alimenta o vaso extrator (5). A temperatura de operação é mantida constante por meio de um banho termostático (6), previamente acionado. Por fim, o CO₂ carrega o extrato para o frasco coletor (7), onde, extrato e CO₂ são separados pela diferença de densidade resultante da depressurização e sua liberação no ambiente após passar pelo rotâmetro (8).

No presente trabalho, previamente aos ensaios em SFE, foi determinada a curva cinética de extração (CCE) ou curva cinética de extração, utilizada para otimizar o processo,

permitindo determinar o tempo de extração, no qual o máximo de rendimento de extrato bruto pode ser extraído da matriz vegetal, com base na relação do extrato (massa acumulada) ou rendimento *versus* o tempo de extração. Na determinação da CCE o leito de extração foi preenchido com 30 g de amostra e 50 g de esfera de vidro. Após pressurização, o CO₂ puro foi admitido no sistema a uma vazão de $1,2 \pm 0,2 \text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}$. O processo foi realizado a uma pressão de 25 MPa e temperatura de 50 °C, correspondente ao ponto central dos experimentos, e desenvolvido de acordo com o que foi descrito na anteriormente. Os frascos de coleta foram previamente pesados e a pesagem do extrato obtido realizada em intervalos de tempo de 5, 10 e 20 min, totalizando 18 pontos de coleta em um tempo total de 4 h de extração. Os dados experimentais foram ajustados em um modelo de Regressão Linear por Partes no *software* MatLab® versão R2016a (Mathworks Inc., Natick, MA, USA), no qual três ajustes lineares foram aplicados. As **Equações 3-5** representam o modelo nas três fases da CCE, sendo elas CER, FER e DC.

Etapa CER ($t \leq t_{CER}$)

$$y = a_1 + K_{CER}t \quad (3)$$

Etapa FER ($t_{CER} \leq t \leq t_{FER}$)

$$y = a_1 + K_{CER}t_{CER} + K_{FER}(t - t_{CER}) \quad (4)$$

Etapa DC ($t \leq t_{FER}$)

$$y = a_1 + K_{CER}t_{CER} + K_{FER}(t - t_{CER}) + K_{DCP}(t - t_{FER}) \quad (5)$$

Nas quais, Y é a massa acumulada, a_1 é o coeficiente linear da reta na etapa CER; K_{CER} , K_{FER} e K_{DCP} são os coeficientes angulares das retas de cada uma das etapas, t é o tempo, t_{CER} é o ponto relativo à primeira etapa, ou seja, o tempo em que se encerra o período de taxa constante (CER) e inicia período de taxa decrescente (FER), t_{FER} é o ponto em que se encerra a etapa FER e se inicia a etapa DC.

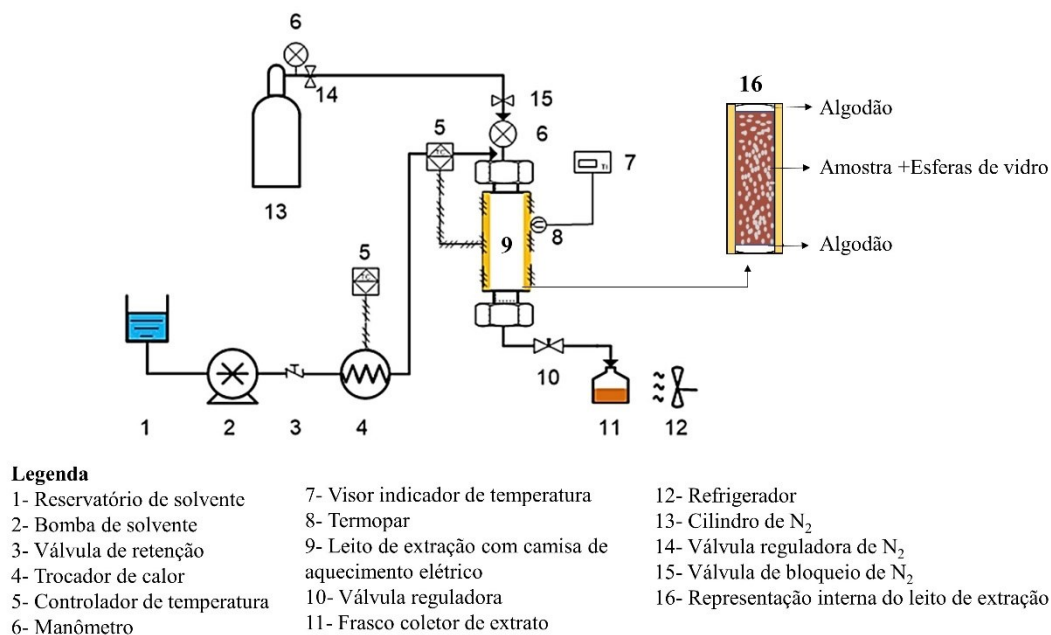
Os ensaios em SFE foram executados de forma dinâmica, ou seja, com passagem contínua do fluido pressurizado pela célula de extração. O fluido utilizado foi o CO₂ puro (99,9%) (White Martins, Florianópolis, SC, Brasil). Inicialmente, a linha foi limpa com hexano, e em seguida com CO₂ para retirada de sujidades ou resquícios de extrações anteriores.

Basicamente, ao leito de extração foram adicionados 30 g de semente de tamarindo e 50 g de esfera de vidro. As condições operacionais foram: tempo de 2h, pré-determinado na CCE, temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressão fixa de 25 MPa. As condições de temperatura e pressão foram baseadas no estudo proposto por REIS et al. (2016). A influência da pressão também foi avaliada, mantendo a temperatura fixa em 50 °C e variando a pressão em 20 e 30 MPa. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Em seguida, os extratos foram acondicionados em frasco âmbar e armazenados a -18 °C até análises.

3.2.2.2 Extração com Líquido Pressurizado (PLE)

A unidade de extração líquido pressurizado foi montada no LATESC/UFSC, cuja descrição completa foi apresentada em trabalho anterior (RODRIGUES et al., 2019) (**Figura 11**). Este equipamento opera com temperaturas que chegam até 180 °C, vazão volumétrica de solvente com variação entre 0,001 a 10 mL·min⁻¹, e pressão de 10 MPa. Esta pressão foi fixada baseada em trabalhos anteriores, que relataram não haver modificações significativas no extrato com a variação da pressão (MUSTAFA; TURNER, 2011; MAZZUTTI et al., 2017a). Devido a ampla capacidade de modificação das condições operacionais, nesta unidade é possível realizar processos de extração líquido pressurizado (PLE) e extração água subcrítica (SWE).

Figura 11- Unidade de extração para os processos PLE e SWE.



Fonte: Adaptado de RODRIGUES et al. (2019)

Após limpeza do equipamento e purga do sistema, todas as válvulas (3,10,14 e 15) são fechadas. A amostra, misturada com esferas de vidro, é disposta na célula de aço inoxidável (9)

com algodão nas extremidades (16). Em seguida, a bomba de líquido isocrática (Waters, modelo 515, Milford, Massachusetts, EUA) (2) é acionada, e o solvente é pré-aquecido até a temperatura de trabalho. O conjunto termopar tipo K (8) (modelo TM 201/15104-K, Salvi Casagrande, São Paulo, Brasil) e painel (7) (modelo N1500, Novus, Porto Alegre, Brasil), permitem o monitoramento da temperatura no interior da célula de extração. A pressão de extração é monitorada por manômetro analógico (6) (modelo 23012, Salvi Casagrande, São Paulo, Brasil). Então, o solvente é transportado pela bomba de líquido isocrática (2) com vazão volumétrica constante, até que ocorra o enchimento completo do leito. Então, a válvula reguladora (10) é aberta, o extrato é coletado em frasco âmbar (11), e resfriado por ventilador (12), para reduzir a temperatura da solução que sai no vaso coletor. O tempo de extração é monitorado manualmente com o auxílio de cronômetro digital. Após período de extração a passagem de solvente para dentro do leito é interrompida e a válvula reguladora (10) é completamente aberta para total recolhimento do extrato.

A extração da fração fenólica da semente em PLE foi realizada em processo dinâmico com os solventes etanol puro (EtOH), etanol 50% (EtOH 50%) (v/v) e água pura (água). Previamente aos ensaios foi determinada a CCE para cada solvente. O leito de extração, preenchido com 8 g de amostra e 80 g de esfera de vidro, foi pressurizado, e o solvente admitido no sistema a uma vazão de $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. O processo foi realizado a uma pressão de 10 MPa e temperatura de $80 \text{ }^\circ\text{C}$, correspondente ao ponto central dos ensaios, e desenvolvido de acordo com o que foi descrito anteriormente. Os extratos líquidos foram recolhidos em intervalos de tempo de 5, 10 e 20 min, totalizando 46 min (15 pontos) de extração com os solventes EtOH e EtOH 50% e 56 min (17 pontos) para água. Os extratos alcoólicos foram secos em evaporador rotativo (Fisatom, 802, Brasil) à temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ e o extrato aquoso seco em liofilizador (Liotop, modelo LD101, São Paulo, Brasil) por 48 h. Os dados experimentais foram ajustados as **Equações 3-5** para determinar a CCE.

Os ensaios em PLE foram realizados de forma dinâmica, na qual ocorre a constante percolação do solvente aquecido e pressurizado dentro do leito de extração. Inicialmente, 8 g de semente de tamarindo foram misturadas com 80 g de esferas de vidro e adicionadas no leito de extração. O solvente foi pressurizado e bombeado para dentro do leito de extração com vazão de $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Para cada solvente (EtOH, EtOH 50% e água) foi avaliada a influência da temperatura variando em 60, 80 e $100 \text{ }^\circ\text{C}$, com pressão fixa de 10 MPa e tempo de 30, 25 e 40 min para as extrações em PLE com EtOH, EtOH 50% e água, respectivamente. As extrações foram realizadas em triplicata. As condições de pressão e temperatura foram baseadas em outros estudos com resíduos agroindustriais (BASEGMEZ et al., 2017; MACK; ANDRIEKUS;

VENSKUTONIS, 2017). Após o período de extração, os extratos alcoólicos foram secos em evaporador rotativo (Fisatom,802, Brasil) à temperatura de 40 °C e o extrato aquoso seco em liofilizador (Liotop, modelo LD101, São Paulo, Brasil) por 48 h. Os extratos secos foram armazenados em frasco âmbar a -18 °C até análises.

3.2.2.3 *Extração com Água Subcrítica (SWE)*

O procedimento operacional e a unidade de extração utilizados para os ensaios de SWE foram os mesmos do processo PLE, descritos na seção 4.2.2.3. A diferença entre os processos PLE e SWE consiste, principalmente, nas condições do sistema, sendo necessário temperatura entre 100-374 °C e pressão entre 0,1–22,1 MPa para o SWE.

O tempo de extração em SWE foi determinado a partir da CCE, na qual, inicialmente o leito de extração foi preenchido com 8 g de amostra e 80 g de esfera de vidro. Então, após a pressurização, a água, solvente deste processo, foi admitida no sistema a uma vazão de 4 mL·min⁻¹. O processo foi realizado com 10 MPa e 150 °C. Os extratos líquidos foram recolhidos em intervalos de tempo de 5, 10 e 20 min, totalizando 2h de extração (24 pontos), e secos em liofilizador (Liotop, modelo LD101, São Paulo, Brasil) por 48 h. Os dados experimentais foram ajustados as **Equações 3-5** para determinação da CCE.

Os ensaios em SWE foram realizados de forma dinâmica com vazão de solvente de 4 mL·min⁻¹, pressão de 10 MPa e tempo de 80 min, pré-determinado na CCE. A influência da temperatura foi avaliada neste processo, sendo os ensaios realizados em temperaturas de 150 e 170 °C. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Após o período de extração, a solução foi liofilizada por 48 h e os extratos secos armazenados em frasco âmbar a -18 °C até análises.

3.2.2.4 *Extração em Soxhlet (SOX)*

A extração em Soxhlet (SOX) foi realizada com base no método AOAC 930.39 (AOAC, 2012) com modificações. Os solventes utilizados neste processo foram hexano e etanol. Inicialmente, pesaram-se 5 g da de semente seca e moída em cartucho de papel de filtro e adicionaram-se em um balão de destilação 150 mL do solvente. A extração, realizada na temperatura de ebulição de cada solvente (etanol-78 °C, hexano-69 °C), compreendeu em 8 a 9 ciclos contínuos por hora, com um total de 6h de processo. Em seguida, a solução soluto/solvente foi concentrada a vácuo em evaporador rotativo (Fisatom, 802, Brasil), à temperatura de 40 °C. Os ensaios foram realizados em triplicata e os extratos secos foram armazenados em frasco âmbar a -18 °C até análises.

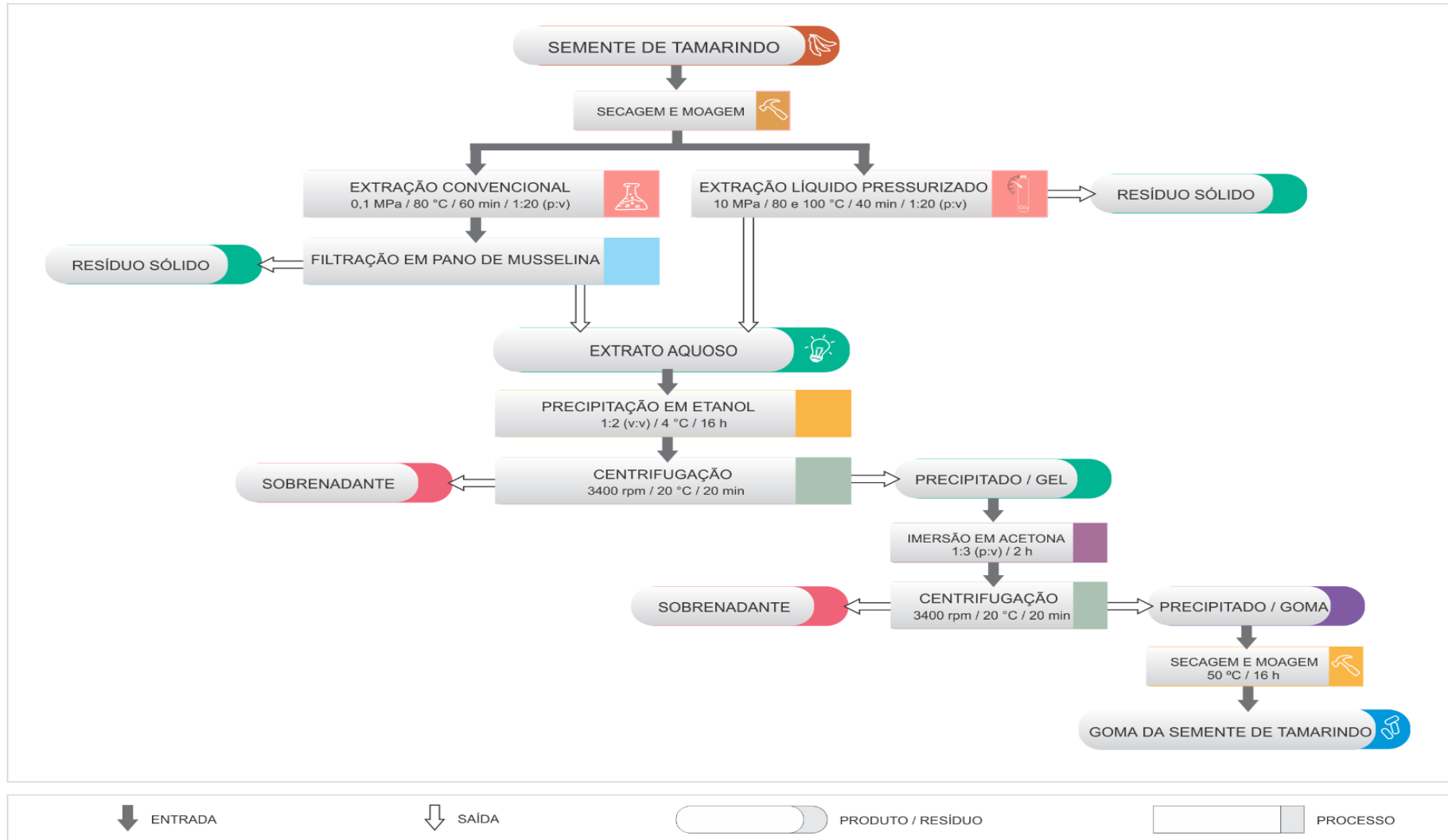
3.2.2.5 Extração sólido-líquido por agitação a quente (CHSE)

A CHSE foi realizada em banho de água quente dubnoff-modelo 304-TPA (Ethiktechnology, São Paulo, Brasil) em modo estático. Resumidamente, 3 g de semente foram adicionados em Erlenmeyer juntamente com água destilada como solvente nas proporções de 1:20 e 1:40 (m / v). Estas proporções foram baseadas na razão sólido/líquido das extrações a alta pressão (apresentadas na seção 2.4). A extração foi realizada sob agitação constante a 80 °C por 60 min, condição baseada no estudo de ALPIZAR-REYES et al. (2017) sobre extração de goma da semente de tamarindo (ALPIZAR-REYES et al., 2017) (ALPIZAR-REYES et al., 2017). Os testes foram realizados em triplicata, sendo a dispersão resultante filtrada e o filtrado liofilizado (Liotop, modelo LD101, São Paulo, Brasil) por 48 h. Os extratos secos foram armazenados em frasco âmbar a -18 °C até a análise.

3.2.2.6 Extratos aquosos: extração da goma da semente de tamarindo

Os extratos aquosos obtidos em PLE a 80 e 100 °C foram selecionados para extração da goma de tamarindo, devido ao maior conteúdo de carboidratos totais. O extrato obtido convencionalmente por CHSE a 80 °C também foi avaliado. A **Figura 12** representa o fluxograma de processamento da goma, que foi realizado com base na metodologia proposta por FREITAS et al. (2005), com pequenas modificações. Basicamente, na extração CHSE, a semente de tamarindo seca e moída foi extraída no modo estático a 0,1 MPa, 80 °C, razão sólido/líquido de 1:20 (m/v) e tempo de 60 min, em seguida a mistura resultante foi filtrada em pano de musselina para a obtenção do extrato aquoso. A extração em PLE foi realizada no modo dinâmico a 10 MPa, razão sólido/líquido de 1:20 (m/v), tempo de 40 min e nas temperaturas de 80 e 100 °C. O extrato aquoso obtido nas extrações (PLE e CHSE) foi precipitado em etanol na proporção de 1:2 (v/v) e armazenado sob refrigeração (4 °C) por 16 h. Em seguida, a solução foi centrifugada a 3400 rpm por 20 min/20 °C (Q222T, Quimis, Diadema, Brasil), e o precipitado/gel resultante foi imerso em acetona (1:3 (m/v)) por 2 h, para retirada de água, etanol e outros compostos solúveis em acetona (fenólicos e taninos). Então, a solução foi centrifugada (3400 rpm / 20 min/ 20 °C) e a goma resultante foi seca em estufa de circulação e renovação de ar (De Leo, Porto Alegre, Brasil), a 50 °C por 16 h, condição baseada no estudo proposto por RODRIGUES et al. (2018). A goma seca foi moída em almofariz até a obtenção de um pó fino. Todas as extrações foram realizadas em triplicata e as gomas secas foram armazenadas a -18 °C até análise.

Figura 12- Fluxograma de extração da goma da semente de tamarindo.



Fonte: Autor, 2022.

3.2.2.7 Rendimento global (X_0) das extrações

O rendimento global dos extratos foi calculado de acordo com a **Equação 6**, e os resultados expressos como média \pm desvio padrão.

$$X_0 = \frac{ME}{MI} \times 100 \quad (6)$$

Na qual, X_0 é o rendimento global da extração (%), ME é a massa do extrato seco (g), obtido após a extração e MI é a massa inicial (g) do resíduo de tamarindo utilizada em cada extração.

3.2.3 Caracterização dos extratos apolar e polar

3.2.3.1 Conteúdo fenólico total (TPC)

O conteúdo fenólico total presente nos extratos da semente de tamarindo foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu, de acordo com metodologia proposta por KOŞAR; DORMAN; HILTUNEN (2005).

Os extratos foram inicialmente diluídos em seus respectivos solventes de extração a uma de concentração de $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (m/v). Em tubos microcentrífuga foram adicionados 600 μL de água destilada, 10 μL do extrato diluído e 50 μL do reativo Folin. Após agitação em vórtex e repouso por 1 min, foram adicionados aos tubos 150 μL da solução de carbonato de sódio (20% m/v), meio alcalino da reação. Por fim, 190 μL de água destilada foram inseridos a solução, completando-se o volume final de 1 mL. Após nova agitação em vórtex, os tubos foram deixados em repouso por 2 h em temperatura ambiente e sob o abrigo da luz. O controle negativo dos experimentos foi realizado a partir do solvente de diluição de cada extrato. Ao final do período de reação, as amostras foram transferidas para microplaca de fundo chato de 96 poços (Kasvi, São José do Pinhais, Brasil), e sua absorbância medida no comprimento de onda de 760 nm, em Multileitora de microplacas (Multileader Infinite M200 TECAN, ZH, Switzerland), localizada no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia da UFSC.

O teor de fenólico total presente nos extratos foi avaliado a partir da correlação das absorbâncias das amostras a uma curva de calibração de solução padrão de ácido gálico (Sigma Aldrich) ($0,06\text{-}1,4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), expressa em equivalente de ácido gálico (GAE) *versus* absorbância, representada no **Apêndice B (Figura B.I)**. O ensaio foi realizado em triplicata e o resultado final expresso em $\text{mg EAG} \cdot \text{g}^{-1}$ de extrato seco, como descrito na **Equação 7**.

$$TPC \text{ (mg GAE. g}^{-1}\text{)} = \left(\frac{GAE}{D_{extrato}} \right) * 1000 \quad (7)$$

Na qual, TPC é o teor de fenólicos totais dos extratos expresso em mg GAE·g⁻¹ de extrato; GAE é o equivalente em ácido gálico, obtido pela curva padrão (mg GAE·mL⁻¹); D é a diluição do extrato em mg·mL⁻¹.

3.2.3.2 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos de sementes de tamarindo foi determinada pelos ensaios TEAC seguindo os métodos de eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil), redução do íon férrico (FRAP) e captura do radical ABTS⁺. Os extratos foram diluídos em seus respectivos solventes de extração até a concentração de 0,05 mg·mL⁻¹ (m/v). Todas as análises foram realizadas em triplicata e as amostras lidas em multi-leitor de microplaca (Multileader Infinite M200 TECAN, ZH, Suíça / laboratório multiusuário LAMEB / UFSC).

3.2.3.2.1 Ensaio de eliminação do radical DPPH

O ensaio de eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) foi realizado de acordo com metodologia proposta por BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET (1995), com pequenas modificações. Basicamente, em microplaca foram adicionados 50 µL do extrato diluído (0,05 mg·mL⁻¹) e 250 µL de uma solução etanólica de DPPH 0,125 mM. Após 30 min de reação em temperatura ambiente e sob o abrigo da luz, a absorbância das amostras foi medida em comprimento de onda de 517 nm. O controle negativo foi determinado pela adição do solvente de diluição no lugar da amostra. O ensaio foi realizado em triplicata e o percentual de inibição da atividade sequestradora do radical DPPH foi determinado pela **Equação 8**. Os dados experimentais foram correlacionados com curva de calibração utilizando o padrão Trolox, com concentração variando entre 5 e 325 µmol·L⁻¹ (**Apêndice C-Figura C.I** - R² = 0,992). Os resultados foram expressos em µmol de capacidade antioxidante equivalente em Trolox por grama de extrato seco (µmol TEAC.g⁻¹).

$$AA \text{ (\%)} = \left[1 - \left(\frac{Abs_E}{Abs_C} \right) \right] * 100 \quad (8)$$

Na qual, ABS_E e ABS_C são as absorvâncias do extrato e do controle negativo, respectivamente.

3.2.3.2.2 Ensaio de captura do radical $ABTS^+$

O ensaio de captura do radical $ABTS^+$ foi descrito por RE et al. (1999) com adaptações realizadas por ZIELINSKI; HAMINIUK; BETA (2016). Inicialmente, o radical $ABTS^+$ foi preparado pela reação de 3 mL da solução estoque de $ABTS$ $7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ com 3 mL da solução estoque de persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$) $2,45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. Em seguida, a solução foi armazenada sob o abrigo da luz e em temperatura ambiente por 16h. No dia da análise, 4 mL do radical $ABTS^+$ foi diluído em 150 mL de água, e sua absorvância, medida no comprimento de onda de 734 nm, foi corrigida para 0,7 para padronizar a solução. A análise foi realizada em microplaca com 20 μL do extrato diluído ($0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e 280 μL da solução $ABTS^+$. Após reação de 30 min no escuro e em temperatura ambiente, a absorvância das amostras foi medida em comprimento de onda de 734 nm. O controle negativo foi determinado pela adição do solvente de diluição no lugar da amostra. O ensaio foi realizado em triplicata e o percentual de inibição da atividade sequestradora do radical $ABTS^+$ foi determinado pela **Equação 8**. Os dados experimentais foram correlacionados com curva analítica padrão de Trolox, com concentração variando entre 15–325 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (**Apêndice C-Figura C.II** - $R^2=0,998$). Os resultados foram expressos em μmol de capacidade antioxidante equivalente em Trolox por grama de extrato seco ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$).

3.2.3.2.3 Ensaio de redução do íon férrico (FRAP)

A atividade de redução do íon férrico (Fe^{3+}) em íon ferroso (Fe^{2+}) dos extratos foi descrita por BENZIE; STRAIN (1996) com modificações realizadas por ZIELINSKI et al. (2014). A solução FRAP foi preparada por adição de 60 mL do tampão acetato de sódio $300 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 3,6), 6 mL da solução de TPTZ $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ diluída em ácido clorídrico (HCl) $40 \mu\text{M}$, e 6 mL da solução de cloreto férrico ($FeCl_3$) $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 10:1:1 (v/v/v). Em microplaca foram adicionados 10 μL do extrato diluído ($0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e 290 μL da solução FRAP, e mantida à temperatura ambiente sob o abrigo da luz por 30 min. Em seguida, a absorvância das amostras foi medida em comprimento de onda de 593 nm. O controle negativo foi determinado pela adição do solvente de diluição no lugar da amostra. O ensaio foi realizado em triplicata e os dados experimentais correlacionados com curva analítica padrão de Trolox, com concentração variando entre 25–250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (**Apêndice C-Figura C.III** - $R^2=0,993$). Os

resultados foram expressos em μmol de capacidade antioxidante equivalente em Trolox por grama de extrato seco ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$).

3.2.3.3 Identificação do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa (GC-MS)

O perfil de ácidos graxos dos extratos oleosos obtidos em SFE e em SOX-Hex foi determinado por cromatografia gasosa (GC-MS) na Central de Análises do EQA-UFSC. O extrato foi inicialmente metilado de acordo com metodologia proposta por O'FALLON et al. (2007). Basicamente, 20 μL de óleo foi esterificado em KOH 1 N e em MeOH por 1,5 h a 55 °C. Em seguida, metilado por catálise de H_2SO_4 24 N durante 1,5 h a 55 °C, e posterior adição de hexano. Após este processo, uma alíquota de 1 mL da fase superior (hexânica) foi coletada e estocada a 4 °C até análise em GC-MS.

O perfil de ácidos graxos dos extratos foi avaliado em cromatógrafo a gás USA GC 7890A / MS 5975C (Agilent Technologies, Califórnia, USA). As separações cromatográficas foram realizadas usando uma coluna de fenilmetil siloxane 5% (HP-5MS 30 m x 250 μm x 0.25 μm ; Agilent Technologies). O gás de arraste foi o hélio ($1,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e o volume de injeção foi de 1 μL no modo *Split* (1:50) a 250 °C, com atraso do solvente em 5 min. A temperatura do forno foi mantida a 60 °C por 3 min e depois programada para 220 °C a 5 °C por minuto. A temperatura da linha de transferência foi de 240 °C. O espectrômetro de massa operou no modo EI (70 eV) com uma faixa de massa de varredura de 55 a 550 m/z . O tempo total da análise foi de 40 min. Os ácidos graxos foram identificados por comparação de seus espectros de massa com espectros disponíveis no Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST) do Banco de Dados de Espectrômetro (NIST 11). Os resultados cromatográficos do GC-MS foram expressos em percentagens da área relativa, em função do tempo de retenção (Rt).

3.2.3.4 Identificação do perfil químico dos extratos por espectrometria de massas (UPLC-MS-QTOF)

Os extratos não oleosos obtidos em PLE, SWE e SOX-EtOH, que apresentaram melhores respostas quanto à composição da atividade fenólica total e antioxidante, foram identificados em cromatografia líquida de alta eficiência no Laboratório Multiusuário Química de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical. As amostras foram previamente preparadas de acordo com a metodologia proposta por NEHME et al. (2008); CHAGAS-PAULA et al. (2015). Basicamente, os extratos foram particionados em 4 mL etanol / água (70:30), e centrifugados para separar o extrato não dissolvido da solução. Em seguida, uma

alíquota de 1mL da fase inferior (hidroetanólica) foi removida e filtrada (0,20µm PTFE). O filtrado foi recolhido em frascos e armazenado a -80 °C até análise subsequente.

O sistema UPLC-QTOF-MS foi montado com coluna *Waters Acquity* UPLC BEH (150 x 2,1 mm, 1,7 µm) e temperatura constante de 40 °C. O sistema de eluição gradiente consistia em uma fase móvel composta por 0,1% de ácido fórmico em água (A) e 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila (B). As condições de eluição foram: variação de 2% a 95% do gradiente B (0-15 min), 100% B (15-17 min), 2 % B (17,0), 2% (17,0-19,0 min), fluxo de 0,4 mL·min⁻¹ e volume de injeção de 5 µL. Os cromatogramas foram gerados por meio de detector (espectrômetro de massa) (Waters, Milford, MA, EUA) com interface de ionização por eletrospray (ESI) nos modos de ionização positivo, adquirido na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte de 120 °C, temperatura de dessolvatação de 350 °C, fluxo de gás de dessolvatação de 500 L/he tensão capilar de 3,2 kV. O modo de aquisição foi MS^E. O equipamento foi controlado pelo programa de software MassLynx 4.1 (Waters Corporation, EUA).

O conjunto de dados foi importado para o *software Mass Spectrometry - Data Independent AnaLysis* (MS-DIAL 4.48), com o objetivo de obter espectros deconvoluídos e o alinhamento dos picos. Assim, os metabólitos foram identificados provisoriamente por suas fórmulas elementares e fragmentação MS/MS com regras heurísticas ativadas (KIND; FIEHN, 2007; SUMNER et al., 2007). Após a obtenção dos espectros MS/MS, foi realizada uma identificação presumida dos compostos, comparando os dados com informações de banco de dados como KNApSAcK, Enciclopédia de Quioto de genes e banco de dados de genoma (KEGG), *SciFinder*, *PubChem* e *ChemSpider*. Seguindo os parâmetros da iniciativa de padrões metabólicos (MSI) nível 2.1 (SUMNER et al., 2007), uma identificação proposta foi fornecida, incluindo fórmula molecular e fragmentos de MS^E. É importante mencionar que a identificação química foi baseada na quimiotaxonomia (família, gênero e espécie).

3.2.4 Caracterização dos componentes químicos totais dos extratos aquosos

Os extratos aquosos da semente de tamarindo obtidos em PLE, SWE e CHSE-80°C (1:20 e 1:40 m/v) foram avaliados em relação ao conteúdo de carboidratos totais, ácido urônico e proteínas totais. O conteúdo de carboidratos totais foi determinado pelo método do ácido fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956) com modificações realizadas por MASUKO et al. (2005). Resumidamente, 200 µL de extrato diluído (0,2 mg·mL⁻¹) foram adicionados em tubo de vidro com 180 µL de uma solução aquosa de fenol a 5% (m/v). Após leve agitação, foi adicionado ao tubo 600 µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado, agitado suavemente e

posteriormente aquecido a 90 °C por 5 min em banho-maria. Após resfriar à temperatura ambiente, 300 µL da mistura foram transferidos para microplaca, e a absorbância medida em Multileitora de microplacas (Multileader Infinite M200 TECAN, ZH, Switzerland), a 490 nm, com água como branco. O ensaio foi realizado em triplicata e os dados experimentais correlacionados com curva analítica padrão de glicose, com concentração entre 0,02–0,2 mg·mL⁻¹ (Apêndice E-Figura E.I - R² =0,985). Os resultados foram expressos em grama equivalente de glicose por 100 gramas de extrato seco (g GE·100 g⁻¹ e.s).

O conteúdo de ácido urônico foi analisado pelo ensaio de meta-hidroxidifenil, de acordo com metodologia proposta por BLUMENKRANTZ; ASBOE-HANSEN (1973). Em tubos de vidro foram adicionados 0,2 mL do extrato diluído (0,2 mg·mL⁻¹) e 1,2 mL da solução de tetraborato de sódio 0,0125 M preparada com ácido sulfúrico concentrado. Após leve agitação em vórtex, os tubos foram deixados em banho-maria a 100 °C por 5 min, e posteriormente resfriados em banho de gelo. Então, foi adicionado ao tubo 20 µL da solução de meta-hidroxidifenil 0,15%, preparada com hidróxido de sódio 0,5% (m/v). Após 5 min de reação, foi a absorbância das amostras foi medida em espectrofotômetro (800 XI, Femto, São Paulo, Brasil), no comprimento de onda de 520 nm. O ensaio foi realizado em triplicata e os dados experimentais correlacionados com curva analítica padrão de ácido D-galacturônico, com concentração entre 4,6–64,1 µg·mL⁻¹ (Apêndice E-Figura E.II - R² =0,992). Os resultados foram expressos em grama equivalente de ácido D-galacturônico por 100 gramas de extrato seco (g AG·100 g⁻¹ e.s).

O conteúdo de proteína total dos extratos foi determinado pelo método Kjeldahl (AOAC, 2000). Inicialmente, cerca de 0,5 g de amostra foram decompostas em matéria orgânica a partir de digestão com ácido sulfúrico concentrado (10 mL) à 400 °C, na presença de uma mistura catalítica de dióxido de selênio, sulfato de cobre, sulfato de sódio (1:10:100 p:p:p). Posteriormente, o conteúdo de nitrogênio total da amostra foi determinado por destilação com hidróxido de sódio 40%, seguida de titulação com solução de ácido clorídrico 0,1N (padronizada). Os dados de nitrogênio obtidos foram convertidos em valores de proteína usando um fator de conversão de 6,25, fator médio utilizado para alimentos em geral (CECCHI, 2003). A análise foi realizada em triplicata e o resultado foi expresso em gramas por 100 g de extrato seco (g·100g⁻¹ e.s).

3.2.5 Caracterização da goma da semente de tamarindo

A goma da semente de tamarindo foi obtida a partir dos extratos de PLE (80 e 100 °C) e CHSE-80°C (1:20 m/v) após precipitação em etanol. Os métodos de extração foram

comparados a partir do rendimento, de acordo com equação da Seção 3.2.2.7, e goma caracterizada por análise de cor.

Os parâmetros de cor das gomas foram avaliados em colorímetro espectrofotômetro CM-5 (Minolta® Color Reader, Osaka, Japão) com fonte de luz padronizada, a partir das coordenadas L^* , a^* , b^* do sistema CIELab. A análise foi realizada no Laboratório de Tecnologia da Biomassa na Embrapa Agroindústria Tropical. As gomas úmidas foram acondicionadas em placa de Petre com fundo branco, e as leituras realizadas em triplicata a partir de distintos pontos de contato. Os valores de cor foram registrados como L^* = luminosidade (0 = preto, 100 = branco), a^* [(-) = verde / (+) = vermelho], b^* [(-) = azul / b^* (+) = amarelo], bem como os índices de transparência (W_i) e amarelecimento (Y_i). A partir dos dados experimentais de L^* , a^* , b^* foi determinado também a diferença de cor (ΔE), de acordo com a equação (9) (AHMADI et al., 2012).

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (10)$$

3.2.6 Análise estatística

Os resultados obtidos no rendimento e na caracterização dos extratos foram reportados como média \pm desvio padrão, e analisados estatisticamente por análise unidirecional de variância (ANOVA). As análises foram realizadas no *software* STATISTICA (versão 12) e a diferença significativa entre as amostras foi determinada pelo teste de Tukey, admitindo nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo foi dividido em duas partes para apresentar os resultados da caracterização dos extratos obtidos. A PARTE I corresponde aos extratos das frações lipídica e fenólica e a PARTE II corresponde a caracterização química geral dos extratos aquosos e a extração e caracterização da goma da semente de tamarindo.

PARTE I

3.3.1 Caracterização da matéria-prima

A semente de tamarindo, após seca e moída, foi caracterizada quanto ao tamanho médio de partículas. O diâmetro médio da matriz foi de 0,40 mm. De acordo com MEIRELES (2007) a fim de melhorar o rendimento, a percolação do solvente e evitar o entupimento do leito

extrator, a razão entre o diâmetro do leito e o diâmetro da partícula deve estar entre 50 e 250 mm. Os leitos de extração utilizados neste estudo apresentam diâmetro de: SFE (20 mm), PLE (25 mm), o que proporciona uma relação com o diâmetro médio de partícula dentro da faixa proposta por MEIRELES (2007), indicando uma provável ausência de caminhos preferenciais no leito e melhor eficiência do processo.

A **Tabela 3** apresenta a composição proximal da semente de tamarindo. Os valores encontrados para umidade e cinzas foram similares aos reportados na literatura. MOHAMED; MOHAMED; AHMED (2015), por exemplo, em estudo das propriedades físico-químicas da semente de tamarindo de coloração marrom, originárias do Sudão, reportaram valores de $11,2 \pm 0,01 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para umidade e $2,2 \pm 0,05 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para cinzas. Em estudo similar, FERREIRA et al. (2019) encontraram valores de $10,2 \pm 0,02 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para umidade e $2,2 \pm 0,01 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ para cinzas presentes em semente de tamarindo cultivada no cerrado brasileiro.

Em relação ao teor de proteínas ($20,7 \pm 0,3 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s}$) e carboidratos ($50,8 \pm 0,9 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s}$), foi observado que estes correspondem a cerca de 71% do total da composição proximal da semente de tamarindo. De acordo com BAGUL; SONAWANE; ARYA (2018), a semente de tamarindo contém grande quantidade de aminoácidos essenciais, o que a torna uma fonte de proteínas, bem como de carboidratos e lipídeos, uma vez que é na semente que se concentra a reserva de nutrientes da planta. Em relação ao teor de carboidratos, o valor encontrado no presente estudo, está dentro da faixa de percentual dessa substância (17,4-59,3 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ m.s}$) relatado para a semente de tamarindo cultivada no Brasil (LUZIA; JORGE, 2011; FERREIRA et al., 2019). Os carboidratos da semente de tamarindo, em especial os xiloglucanos, são amplamente extraídos e avaliados em relação as suas propriedades texturais e nutricionais, normalmente aplicadas a alimentos e formulações de medicamentos (SIVAKUMAR; KARUPPAIYAN, 2020).

Além dos carboidratos e das proteínas, a semente de tamarindo destaca-se pelo seu teor lipídico. Neste estudo foi encontrado um teor lipídico de $5,3 \pm 0,3 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$, resultado superior ao de outros estudos da literatura (1,7 - 3,4 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s}$) (LUZIA; JORGE, 2011; FERREIRA et al., 2019).

O teor fibras totais foi de $9,3 \pm 0,6 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s}$. Martins et al. (2020) reportaram que em relação a semente de tamarindo oriunda de diferentes países de cultivo, aquelas de origem brasileira apresentam maior teor de fibras, contendo cerca de 10 vezes mais fibras do que amostras de outros países. Estas variações podem ocorrer devido as condições do solo, as práticas de cultivo, as mudanças climáticas e as cultivares utilizadas em cada região (OKELLO et al., 2017; FERREIRA et al., 2019).

Tabela 3 - Composição proximal em gramas por 100 g de semente de tamarindo seca.

Umidade	11,8 ± 0,6
Cinzas	2,1 ± 0,02
Proteínas	20,7 ± 0,3
Lipídios	5,3 ± 0,3
Fibras totais	9,3 ± 0,6
Carboidratos totais	50,8 ± 0,9

A caracterização da matéria-prima em relação a composição proximal destacou grupos de maior percentual na semente de tamarindo. Assim, os métodos de extração foram determinados de acordo com as frações de interesse. Posterior as etapas de extração a biomassa residual, ainda composta por fibras e minerais pode ser aproveitada para fins específicos, como fibra alimentar, reforço polimérico ou ração animal, por exemplo.

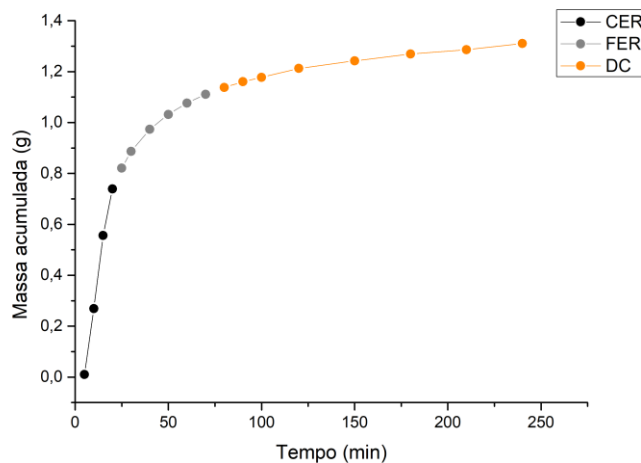
3.3.2 Curvas cinéticas de extração (CCE)

A determinação do tempo do processo, foi realizada por meio de curvas cinéticas de extração (CCE) para cada método de extração analisado. Esta análise prévia do tempo é importante para a posterior avaliação da influência das condições operacionais no rendimento global (X_0). Em todas as curvas cinéticas da semente de tamarindo foram observadas três etapas de extração. Na etapa inicial, correspondente a taxa de extração constante (CER), ocorre a transferência de massa por convecção do soluto de fácil acesso (soluto envolto das partículas) para o solvente. Em seguida, o processo entra na etapa decrescente de extração (FER), que é governada pelo mecanismo convectivo, que continua ocorrendo na superfície da partícula, em conjunto com o mecanismo difusivo, que ocorre devido a entrada do solvente na matriz através de passagens formadas na superfície externa, solubilizando o soluto e posteriormente ocorrendo a difusão da mistura soluto-solvente para a superfície. Devido a ação conjunta dos mecanismos de transferência de massa, a taxa de extração em FER é reduzida, com o progressivo esgotamento do soluto de fácil acesso. Por fim, o processo entra na etapa difusional (DC), quando o mecanismo de transferência de massa é governado pela difusão do soluto interno para o fluido (solvente) (SOVOVÁ, 1994; MAZZUTTI et al., 2017b). De forma a otimizar o tempo de extração, garantindo que maior percentual do soluto tenha sido extraído, o processo deve alcançar a etapa difusiva (DC).

A CCE para a semente de tamarindo realizada em SFE (CCE-SFE) está representada na **Figura 13**. Os resultados obtidos a partir dos dados experimentais da CCE-SFE foram

ajustados no modelo de regressão linear (Seção 3.2.2.2), e os parâmetros cinéticos estão apresentados na **Tabela 4**.

Figura 13 - CCE da semente de tamarindo realizada em SFE a 25 MPa, 50 °C e vazão de CO₂ de 1,2 ± 0,2 kg·h⁻¹.



Fonte: Autor, 2022.

Tabela 4 - Parâmetros cinéticos da CCE-SFE da semente de tamarindo realizada a 25 MPa, 50 °C e vazão de CO₂ de 1,2 ± 0,2 kg·h⁻¹.

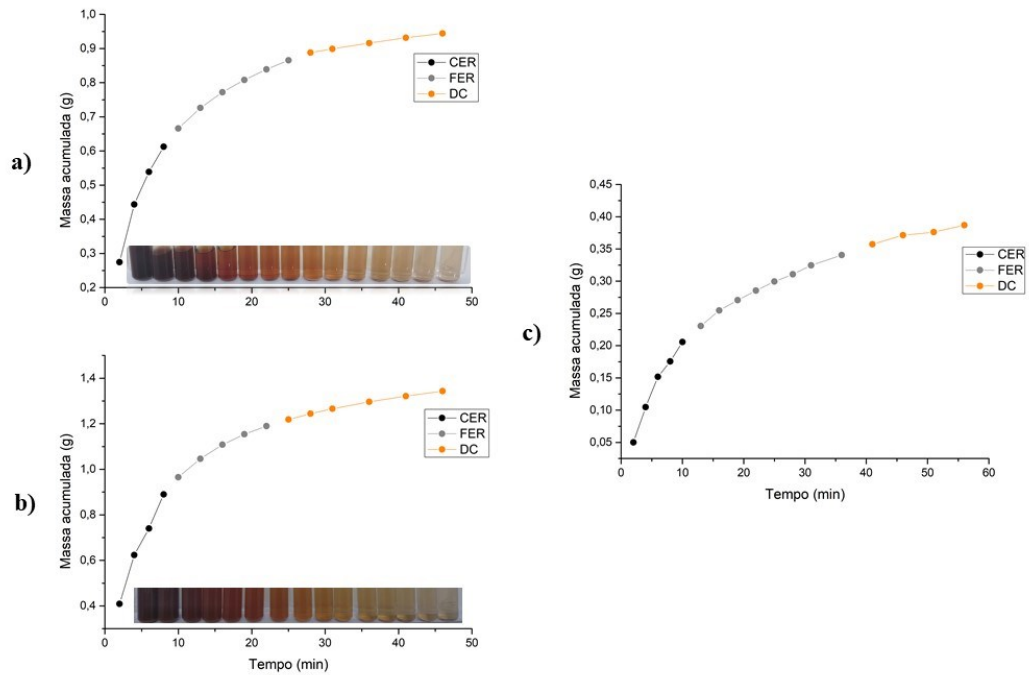
Parâmetro	Etapa da extração		
	CER	FER	DC
t	0-20	25-70	>70
m	0,7393	0,3718	0,1993
X ₀	2,4642	1,2392	0,6643
K	4,95 x 10 ⁻²	6,31 x 10 ⁻³	1,04 x 10 ⁻³
R ²	0,99	0,95	0,96

t: duração da etapa de extração (min); m: massa de extrato aproximada (g); X₀: rendimento da etapa (%); K: taxa de extração g.min⁻¹; R²: ajuste dos dados experimentais

Os dados obtidos na CCE-SFE demonstram que após 70 min de extração, fim da etapa FER, a etapa difusional já havia sido alcançada. Assim, de modo a garantir a máxima recuperação do soluto disponível na matriz, o tempo de 2h, correspondente a um rendimento de 4,04% de óleo, foi fixado para todos os ensaios de determinação de rendimento (X₀) em SFE.

Em relação a PLE foi realizada uma CCE para cada solvente analisado: etanol puro (EtOH), etanol 50% (EtOH 50%) (v/v) e água, na condição de 80 °C, 10 MPa e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹. As CCE-PLE estão representadas na **Figura 14**. Os dados experimentais, plotados em um modelo de regressão linear por partes estão apresentados na **Tabela 5**.

Figura 14 - CCE da semente de tamarindo realizada em PLE com solventes EtOH (a), EtOH 50% (b) e água (c) a 10 MPa, 80 °C e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹. Além da redução da coloração do extrato com o tempo em EtOH e EtOH 50%.



Fonte: Autor, 2022.

Tabela 5 - Parâmetros cinéticos da CCE-PLE da semente de tamarindo realizada com os solventes EtOH, EtOH 50% e água a 10 MPa, 80 °C e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹.

Solvente	Parâmetro	Etapa da extração		
		CER	FER	DC
EtOH	t	0-8	10-25	>25
	m	0,6124	0,2529	0,0787
	X ₀	7,6497	3,1590	0,9830
	K	5,54 x 10 ⁻²	1,3 x 10 ⁻²	3,13 x 10 ⁻³
	R ²	0,96	0,98	0,99
EtOH 50%	t	0-8	10-22	>22
	m	0,89	0,2995	0,1539
	X ₀	11,1156	3,7405	1,9221
	K	6,89 x 10 ⁻²	1,41 x 10 ⁻²	5,49 x 10 ⁻³
	R ²	0,98	0,97	0,99
Água	t	0-10	13-36	>36
	m	0,2058	0,1348	0,0464
	X ₀	2,5709	1,6839	0,5796
	K	1,91 x 10 ⁻²	4,68 x 10 ⁻³	1,88 x 10 ⁻³
	R ²	0,97	0,98	0,96

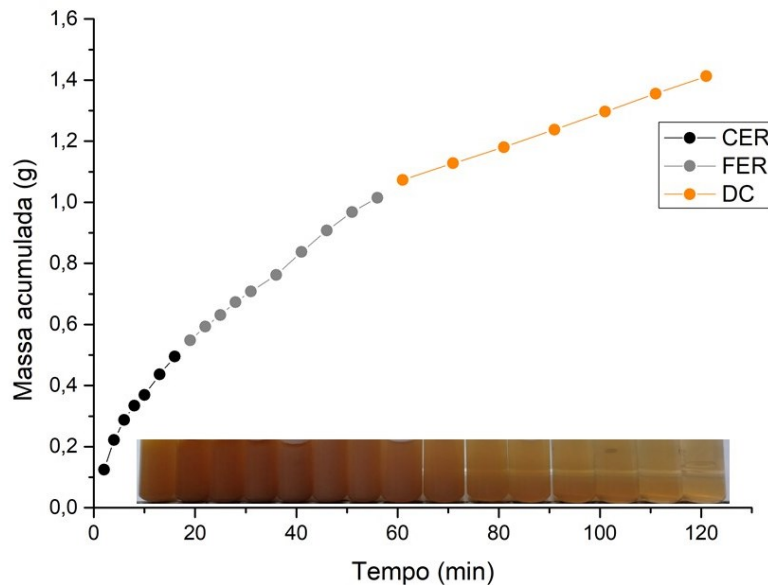
t: duração da etapa de extração (min); m: massa de extrato aproximada (g); X_0 : rendimento da etapa (%); K: taxa de extração $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$; R^2 : ajuste dos dados experimentais

De acordo com a **Figura 14** todos os solventes analisados apresentaram comportamento semelhante, mas com etapas de extração definidas em tempos diferentes. Esta diferença pode ser observada ao avaliar as CCE dos solventes EtOH e EtOH 50%, que apresentaram um tempo necessário para atingir a etapa difusional de 25 e 22 min, respectivamente. A rápida extração na mistura hidroalcoólica pode estar associada a maior solubilidade dos solutos da semente de tamarindo neste solvente. A partir de 30 e 25 min de extração com EtOH e EtOH 50%, foi observada uma manutenção na coloração clara do extrato recuperado (foto dos extratos), o que sugere, juntamente com a curva cinética, a aproximação da taxa nula de extração. Assim, de modo a garantir a máxima recuperação do soluto disponível na matriz, os tempos de 30 e 25 min, correspondentes a um rendimento de 11,22% e 15,21%, foram fixados para os ensaios de determinação de rendimento (X_0) em PLE com EtOH e EtOH 50%, respectivamente.

Na curva cinética da água em PLE (CCE-PLE-água), o período difusional foi alcançado a partir de 36 min de extração. Em comparação aos outros solventes analisados em PLE, a CCE-PLE-água apresentou períodos mais longos e menor rendimento em todas as etapas de extração, o que pode ser relacionado a dificuldade da água pura em permear matrizes que possuem em sua composição substâncias mais viscosas, como polissacarídeos, por exemplo (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012). Esta dificuldade de permeação do solvente pode ser correlacionada ainda a problemas que ocorreram no decorrer do processo experimental como: instabilidade da pressão e da vazão de saída do solvente no período entre 15-30 min. Além do entumescimento da biomassa residual observado após sua retirada do leito de extração. Assim, visando o alcance da etapa difusional, o tempo de 40 min, correspondente a um rendimento de 4,46%, foi fixado para os ensaios de rendimento em PLE-água.

A seletividade da água também foi avaliada a partir do uso de temperaturas mais elevadas no processo de SWE. Na **Figura 15** e na **Tabela 6** estão apresentados os resultados obtidos para a CCE-SWE, realizada com temperatura de 150 °C, pressão de 10 MPa e vazão do solvente de $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Figura 15 - CCE da semente de tamarindo realizada em SWE a 10 MPa, 150 °C e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹, bem como a redução da coloração do extrato com o tempo.



Fonte: Autor, 2022.

Tabela 6 - Parâmetros cinéticos da CCE-SWE da semente de tamarindo realizada a 10 MPa, 150 °C e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹.

Parâmetro	Etapa da extração		
	CER	FER	DC
t (min)	0-16	19-56	>56
m (g)	0,4953	0,5194	0,3979
X ₀ (%)	6,1877	6,4888	4,9709
K (g·min ⁻¹)	2,7 x 10 ⁻²	1,3 x 10 ⁻²	5,7 x 10 ⁻³
R ²	0,97	0,99	0,99

t: duração da etapa de extração (min); m: massa de extrato aproximada (g); X₀: rendimento da etapa (%); K: taxa de extração g·min⁻¹; R²: ajuste dos dados experimentais

A CCE-SWE apresentou um comportamento crescente, diferente do que foi observado para os outros métodos de extração. No entanto, após aplicação dos dados experimentais no modelo de regressão linear por partes, foi observado ajuste dos dados (R²) entre 0,97 e 0,99. Assim como na extração aquosa em PLE, foi observado experimentalmente uma instabilidade na pressão, que em CCE-SWE ocorreu até os primeiros 40 min de extração, além da modificação visual do extrato, o qual inicialmente apresentava-se escuro e com bastante espuma. Estas modificações visuais foram menos expressivas a partir de 61 min, quando o extrato de coloração clara e sem espuma foi obtido. Diante das modificações visuais do extrato

e visando o alcance da etapa difusional, o tempo de 80 min, correspondente a um rendimento de 14,74%, foi fixado para os ensaios de determinação de rendimento (X_0) em SWE.

3.3.3 Avaliação do rendimento global das extrações

A **Tabela 7** apresenta os valores de rendimento global (X_0) obtidos nas extrações SFE, PLE, SWE e SOX. Considerando os diferentes métodos de extração, solventes e condições utilizadas, os valores de rendimento do processo variaram de 3,0 a 16,4%. Essa variação se deve às diferenças nos aspectos fenomenológicos de cada método, que sintonizam a seletividade em relação aos compostos bioativos presentes na matriz vegetal. O SFE, por exemplo, é geralmente usado para recuperar compostos apolares (PEREIRA; MEIRELES, 2010), como lipídios e ácidos graxos, associados à fração oleosa de sementes de tamarindo (REIS et al., 2016; OKELLO et al., 2018).

O SFE foi avaliado quanto a sua seletividade na extração da fração lipídica da semente de tamarindo. Neste processo, o CO_2 puro foi utilizado como solvente, e diferentes temperaturas (40, 50 e 60 °C) e pressões (20, 25 e 30 MPa) foram avaliadas para determinar a condição operacional de melhor resposta. A modificação das condições de temperatura e pressão, não apresentou variação significativa ($p < 0,05$) nos rendimentos de SFE. Em temperatura constante de 50 °C, o aumento da pressão (de 20 para 25 MPa) aumentou levemente o rendimento do processo devido ao incremento na densidade de CO_2 , e conseqüente aumento da solubilidade do soluto no solvente, contribuindo também para a quebra das partículas, facilitando a liberação do soluto mais interno do material sólido (GUINDANI et al., 2016; ANDRADE; PONCELET; FERREIRA, 2017). Enquanto que em pressão constante (25 MPa) e aumento da temperatura (de 40 para 60 °C) também foi observado um pequeno aumento no rendimento, o que se deve ao aumento da pressão de vapor do soluto, apesar da diminuição da densidade de CO_2 (MAZZUTTI et al., 2018). A partir dos dados da **Tabela 7**, foi observado que o melhor desempenho de rendimento de SFE foi de 3,70% fornecido a 60 °C e 25 MPa. REIS et al. (2016), estudando uma variedade de semente de tamarindo doce, encontraram menor rendimento de SFE (2,58%) a 25 MPa e 50 °C.

A extração em SOX com hexano foi utilizada como método de referência para a extração da fração lipídica. Comparando os valores de rendimento obtidos pelos solventes apolares, CO_2 (para SFE) e hexano (para SOX), o maior rendimento foi fornecido por SOX-HEX, de 5,5% ($p < 0,05$), provavelmente devido ao reuso do solvente, bem como maior tempo de extração, quando comparado ao SFE, favorecendo a recuperação do soluto (CHEMAT et al., 2015). No entanto, o SFE com CO_2 , como método de extração seletivo, pode preservar a

qualidade dos extratos recuperados. Além disso, considerando que a semente de tamarindo é composta por $5,3 \pm 0,3 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de lipídeos (Seção 3.3.1), a partir da extração em SFE foi possível recuperar 70 % dos lipídeos, o que torna este método atrativo para indústrias que visam óleos seletivos e de qualidade. Em contraste, caso a fração de interesse não seja a lipídica, a extração em SOX-Hex pode ser eficientemente utilizada como etapa prévia a outros processos que utilizem solventes mais polares, como etanol, metanol e água, por exemplo.

Tabela 7- Rendimento global dos extratos de semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).

Método	Solvente	Condição de extração	X ₀ (%) ⁽¹⁾
SFE	CO ₂	25 MPa / 40 °C	3,3 ± 0,1 ^j
		25 MPa / 50 °C	3,4 ± 0,1 ^j
		25 MPa / 60 °C	3,7 ± 0,1 ^j
		20 MPa / 50 °C	3,02 ± 0,02 ^j
		30 MPa / 50 °C	3,14 ± 0,06 ^j
PLE	EtOH	10 MPa / 60°C	9,4 ± 0,1 ^h
		10 MPa / 80°C	10,4 ± 0,1 ^{gh}
		10 MPa / 100°C	11,2 ± 0,2 ^{fg}
	50% EtOH/Água	10 MPa / 60°C	14,6 ± 0,1 ^{cd}
		10 MPa / 80°C	15,6 ± 0,1 ^{bc}
		10 MPa / 100°C	13,5 ± 0,2 ^{de}
		10 MPa / 60°C	5,8 ± 0,5 ⁱ
Água	10 MPa / 80°C	4,4 ± 0,3 ^{ij}	
	10 MPa / 100°C	4,4 ± 0,4 ^{ij}	
SWE	Água	10 MPa / 150 °C	12,7 ± 1,1 ^{ef}
		10 MPa / 170 °C	20,1 ± 1,5 ^a
SOX	HEX	69 °C	5,5 ± 0,3 ⁱ
	EtOH	78 °C	16,4 ± 0,1 ^b

⁽¹⁾ média ± desvio padrão da capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP); Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). SFE: Extração Fluido Supercrítico; PLE: Extração Líquido Pressurizado; SWE: Extração Água Subcrítica; SOX: Soxhlet; EtOH: etanol

A extração em SOX também foi eficaz na obtenção da fração polar utilizando etanol como solvente. Como pode ser observado na **Tabela 7** o SOX-EtOH forneceu rendimento (16,4%) superior ao dos demais extratos, sugerindo a alta afinidade do etanol por uma grande variedade de compostos da semente de tamarindo. O uso do etanol também foi eficaz no método de alta pressão, PLE, proporcionando rendimentos de 9,4 a 11,2%, com a vantagem adicional de um processo muito mais curto (30 min), em comparação ao SOX (6h). Os valores de rendimento PLE-EtOH tiveram um ligeiro, mas significativo aumento ($p < 0,05$), quando a temperatura variou de 60 a 100 °C. A alta temperatura combinada com a alta pressão podem ter contribuído para romper as ligações moleculares de van der Waals, hidrogênio e dipolo-dipolo

entre o soluto e a matriz celular (MUSTAFA; TURNER, 2011). Assim, a energia de ativação necessária para a solubilização do soluto é reduzida, melhorando o acesso do solvente ao soluto interno e aumentando o rendimento (LASTA et al., 2019).

Os melhores resultados de PLE se devem ao uso de altas pressões, associado ao uso de solventes polares (etanol, água). De acordo com MARKOM et al. (2007) o índice de polaridade de etanol, água e etanol/água 50% é 5,2, 9,0 e 7,9, respectivamente. Essa diferença de polaridade tem forte efeito na seletividade dos compostos fenólicos, maior grupo químico da semente de tamarindo (MARTINS et al., 2020), e pode ser observada pelas diferenças estatísticas obtidas nos resultados de PLE (**Tabela 7**). O rendimento por PLE-EtOH 50% (13,5 - 15,6%) foi estatisticamente maior ($p < 0,05$) do que PLE-EtOH. Esse resultado pode estar associado à presença de polifenóis com diversos grupos hidroxila, como glicosídeos e ácidos hidroxicinâmicos (ácidos cafeico, ferúlico, p-cumárico), comumente encontrados em sementes de tamarindo, e de maior solubilidade em misturas hidroalcoólicas, devido a propriedades físico-químicas (estabilidade, polaridade) desses compostos (ALONSO-SALCES et al., 2001; RAZALI et al., 2015). RODRÍGUEZ-CABO et al. (2018) também reportaram que em comparação com solventes etanol puro, acetona e metanol, a mistura binária de etanol: água (1:1) combinada com a alta pressão (10 MPa) e temperatura (100 °C) do PLE possibilitaram alcançar elevados rendimentos de polifenóis (catequina e epicatequina) presentes em resíduos da indústria vitivinícola.

Apesar do bom desempenho do solvente EtOH 50%, o aumento da temperatura do PLE de 80 para 100 °C reduziu em 2% o rendimento. Sabe-se que compostos termolábeis podem ser degradados em processos de alta temperatura. Mas, neste caso, o menor rendimento também pode ser atribuído à redução da polaridade do solvente, que mesmo em misturas hidroalcoólicas tem suas frações individuais modificadas, além da maior ação da fração aquosa no sistema, uma vez que a água pode exercer atividade hidrolítica em temperaturas elevadas, devido ao aumento de sua constante de ionização (HERRERO et al., 2013; ERŞAN et al., 2018). Conseqüentemente, a água quando utilizada em misturas ou pura pode propiciar a ruptura de moléculas maiores, como os polissacarídeos, que uma vez tendo sua estrutura química rompida podem formar uma rede polimérica, e dificultar a permeação do solvente no leito, o que pode reduzir o rendimento final da extração (TEO et al., 2010; FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015).

A influência da água pura em alta temperatura e pressão foi claramente observada no rendimento dos extratos de PLE-água. O rendimento obtido com este solvente variou entre 4,4 e 5,8%, sendo o melhor resultado obtido na temperatura mais baixa (60 °C). É importante

ressaltar que a semente de tamarindo é uma das fontes mais abundantes de XG, que possuem alta capacidade de retenção de água, podendo se agregar em conformações cruzadas e paralelas, com estrutura semelhante a cordas (KOZIOŁ et al., 2015; MARTINS et al., 2020). Essa agregação, como relatado anteriormente, pode dificultar o acesso do solvente a solutos internos à matriz, o que pode refletir em um menor rendimento do processo (PICOUT et al., 2003; FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). MUÑOZ-GONZÁLEZ et al. (2014), em extração de fitoquímicos presentes no bagaço de uva utilizando PLE com água a 90 °C por 12 min, também atribuíram rendimentos mais baixos a interação da água com compostos mais polares como peptídeos, proteínas e pectinas presentes na matriz. Os autores incentivaram o uso de temperaturas mais brandas ou a modificação do solvente por misturas hidroalcoólicas com maior percentual de etanol ou etanol puro.

Apesar dos baixos rendimentos da água em PLE, quando este solvente foi utilizado com temperaturas mais altas (150 e 170 °C) em SWE foram obtidos rendimentos mais altos, com variação entre 12,6 - 20,1%, estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$). Neste processo, o aumento da temperatura foi diretamente proporcional ao aumento do rendimento. Em SWE, a temperatura é o parâmetro de maior influência na eficiência do processo, devido a modificação da constante dielétrica da água e sua consequente interação molecular com uma ampla classe de compostos, como polifenóis, diterpenos e polissacarídeos (PLAZA; LUISA, 2019). Assim como no presente estudo, ŠVARC-GAJIĆ et al. (2017) relataram em extração de compostos fenólicos de gengibre, que o aumento da temperatura para até 180 °C combinado com pressão de 5 MPa melhorou o rendimento e a atividade antioxidante do extrato.

No entanto, de acordo com a natureza química dos componentes visados, o uso da água em altas temperaturas pode ser limitado (HERRERO et al., 2015). Assim, é importante avaliar se os elevados rendimentos obtidos na temperatura de 170 °C são compostos de interesse antioxidante, ou se são compostos bioativos que podem ter se formado ou hidrolisado, como polissacarídeos, por exemplo. Análises adicionais são necessárias para comprovar estas reações, e verificar a composição química e a funcionalidade antioxidante desses extratos.

Em geral, comparando os valores de rendimento para todos os métodos de extração, sugere-se que a semente de tamarindo contém menor percentual de componentes apolares, solúveis em SFE com CO₂, e em SOX-Hex, além da grande quantidade de substâncias polares, recuperadas por solventes polares (etanol, água e sua mistura), com rendimentos de até 20,1%, pelo SWE. Uma avaliação mais clara do efeito dos métodos e das condições de extração será avaliada nas próximas seções, considerando a qualidade do extrato de acordo com sua capacidade antioxidante e perfil de metabólitos ativos.

3.3.4 Avaliação do conteúdo fenólico total (TPC) dos extratos

Os extratos da semente de tamarindo foram avaliados quanto ao conteúdo de fenólicos totais (TPC) de acordo com a correlação em curva padrão de ácido gálico (**Apêndice - Figura A.I** com R^2 de 0,996). Os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido gálico (GAE) por g de extrato, e variaram entre 0,6 a 305,1 mg GAE·g⁻¹, como mostra a **Tabela 8**.

Tabela 8 - Conteúdo de fenólicos totais dos extratos de semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).

Extração	Solvente	Condição de extração	TPC (mg GAE·g ⁻¹ extrato seco) [*]
SFE	CO ₂	25 MPa / 40 °C	2,3 ± 0,2 ^k
		25 MPa / 50 °C	3,1 ± 0,1 ^k
		25 MPa / 60 °C	1,6 ± 0,1 ^k
		20 MPa / 50 °C	1,09 ± 0,03 ^k
		30 MPa / 50 °C	0,60 ± 0,03 ^k
PLE	EtOH	10 MPa / 60 °C	305,1 ± 2,9 ^a
		10 MPa / 80 °C	294,2 ± 0,8 ^b
		10 MPa / 100 °C	269,2 ± 0,4 ^c
	EtOH 50%	10 MPa / 60 °C	128,5 ± 1,4 ^g
		10 MPa / 80 °C	124,8 ± 0,5 ^g
		10 MPa / 100 °C	147,7 ± 0,9 ^e
		10 MPa / 60 °C	102,6 ± 1,6 ⁱ
Água	10 MPa / 80 °C	147,5 ± 3,3 ^e	
	10 MPa / 100 °C	135,7 ± 2,8 ^f	
SWE	Água	10 MPa / 150 °C	119,8 ± 0,3 ^h
		10 MPa / 170 °C	79,5 ± 0,8 ^j
SOX	HEX	69 °C	1,7 ± 0,1 ^k
	EtOH	78 °C	262,9 ± 0,7 ^d

*média ± desvio padrão do conteúdo de fenólicos totais (TPC); Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). SFE: Extração Fluido Supercrítico; PLE: Extração Líquido Pressurizado; SWE: Extração Água Subcrítica; SOX: Soxhlet; HEX: hexano; EtOH: etanol

Os extratos oleosos obtidos pelas extrações SFE e SOX-Hex apresentaram os menores resultados, sem diferença significativa entre eles ($p < 0,05$), o que era esperado considerando as características apolares dos solventes (CO₂ e hexano), que não favorecem a solubilização de compostos fenólicos de polaridade intermediária a alta (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012). Dentre essas extrações, o processo SFE a 25 MPa, 50 °C, 2h e vazão de CO₂ de 1,2 kg·h⁻¹ proporcionou o maior TPC (3,1 mg GAE·g⁻¹). Esse resultado de TPC foi inferior ao encontrado por REIS et al. (2016), que relataram TPC de 25,1 mg GAE·g⁻¹ para o extrato obtido na mesma condição de pressão e temperatura, porém com maior tempo de processo (4 h) e com semente de tamarindo da variedade doce, fatores que podem ter influenciado no aumento do TPC. Outros estudos de extração também destacaram menor TPC em extratos obtidos em SFE

e SOX-Hex, quando comparado a extratos obtidos em outros métodos de extração a alta pressão usando solventes polares ou a mistura entre eles (FERRO et al., 2019; SANTOS et al., 2021).

Em relação aos extratos obtidos com solventes polares (etanol e água) demonstraram maior recuperação de compostos fenólicos, o que foi evidenciado pelos elevados resultados de PLE e SOX-EtOH. A extração em PLE-EtOH a 10 MPa, 60 °C por 30 min, por exemplo, proporcionou o maior resultado de TPC (305,1 mg GAE·g⁻¹). A análise desse resultado sugere que uma maior proporção de compostos fenólicos de polaridade intermediária está presente na semente de tamarindo, devido à maior solubilidade em etanol, em comparação ao solvente EtOH 50%, que apresenta solubilidade para compostos de polaridade intermediária-alta. O uso de etanol 99% foi previamente relatado como eficiente na extração de compostos fenólicos da semente de tamarindo. LUZIA; JORGE (2011), por exemplo, realizaram a maceração da semente de tamarindo com etanol por 30 min em temperatura ambiente e encontraram valor de TPC de 49,3 mg GAE·g⁻¹, resultado seis vezes mais baixo do que o encontrado no presente trabalho em PLE com etanol (305,1 mg GAE·g⁻¹). O principal diferencial é o uso de alta pressão, que pode ter potencializado a recuperação de compostos fenólicos da semente de tamarindo.

Altos valores de TPC também foram detectados em extratos recuperados no solvente hidroalcoólico (124,8 - 147,7 mg GAE·g⁻¹). O TPC dos extratos obtidos em PLE-EtOH 50% não apresentou diferença estatística nas menores temperaturas (60 e 80 °C). SARKAR; GHOSH (2018), por exemplo, em extração convencional usando EtOH 50% em banho maria a 50 °C por 3 h obtiveram o máximo valor de TPC (35,9 mg GAE·g⁻¹) entre os solventes (água, etanol 50% e metanol 50%) e temperaturas (30-50 °C) analisados. O resultado obtido por SARKAR; GHOSH (2018) foi inferior ao TPC obtido no presente estudo em PLE com condição similar (EtOH 50% /60 °C), mas com o emprego de alta pressão (128,5 mg GAE·g⁻¹). No processo PLE-EtOH 50% foi observado ainda que o aumento da temperatura para 100 °C aumentou o valor de TPC, o que sugere que essa condição favoreceu a ruptura da parede celular das partículas e a melhor solubilidade dos compostos fenólicos, principalmente aqueles de média a alta polaridade que possuem maior afinidade pela fração aquosa do solvente (CHEMAT et al., 2019).

Embora a água seja o solvente mais polar utilizado neste estudo, o uso de água pura proporcionou menores valores de TPC em PLE (102,6 - 147,5 mg GAE·g⁻¹) e em SWE (79,5 - 119,8 mg GAE·g⁻¹), quando comparados aos resultados dos demais solventes polares analisados. Esse resultado corrobora com os baixos valores de rendimento obtidos por este solvente em PLE-água, e pode estar relacionado ao longo tempo de extração (40 min) e à

atividade hidrolítica da água. Conforme relatado anteriormente, a água quente pressurizada pode favorecer a extração de substâncias mais viscosas, o que pode dificultar o acesso do solvente aos compostos fenólicos, que normalmente estão localizados nos vacúolos celulares ou ligados a componentes da parede celular (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). Os valores mais baixos de TPC também podem ser correlacionados com a seletividade da água por compostos fenólicos presentes na semente de tamarindo. Esta seletividade está diretamente relacionada com as diferentes temperaturas analisadas. Em temperaturas moderadas (até 100 °C) a constante dielétrica da água é mais alta, sendo seletiva para compostos mais polares, enquanto que em temperaturas entre 100-374 °C esta constante dielétrica é reduzida, equivalente à de solventes orgânicos, sendo seletiva para compostos menos polares (HERRERO et al., 2013). É importante observar que, apesar dos baixos valores de TPC dos extratos aquosos, em comparação ao etanol, o desempenho da água do presente estudo foi melhor do que o relatado na literatura para outros métodos. SORADECH et al. (2016), por exemplo, relataram TPC de 39,3 mg GAE·g⁻¹ de extrato aquoso de semente de tamarindo obtido por maceração por 48 h.

Os resultados de TPC dos extratos de semente de tamarindo, obtidos por diferentes métodos e condições de extração, demonstraram que há uma grande variação no teor de fenólicos presentes nesta matéria-prima. De acordo com CRAFT et al. (2012) esta variação também pode ser relacionada com a capacidade antioxidante dos extratos, mas acredita-se que ensaios específicos para avaliar esta atividade são necessários, devido ao complexo modo de ação dos antioxidantes.

3.3.5 Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos

A capacidade antioxidante dos extratos de semente de tamarindo foi avaliada pelos ensaios de DPPH, ABTS e FRAP, a fim de comprovar sua atividade funcional como antioxidante natural. Os dados experimentais para os ensaios foram correlacionados com curva padrão de Trolox, com valores de R² de 0,9924, 0,9982 e 0,993, respectivamente (**Apêndice C**). Os resultados foram expressos em μmol equivalente de Trolox (TEAC) por g de extrato (μmol TEAC·g⁻¹), e estão apresentados na **Tabela 9**.

Tabela 9- Capacidade antioxidante dos extratos de semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).

Extração	Solvente	Condição de extração	DPPH ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ extrato seco) ⁽¹⁾	ABTS ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ extrato seco) ⁽¹⁾	FRAP ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ extrato seco) ⁽¹⁾
SFE	CO ₂	25 MPa /40 °C	2,6 ± 0,1 ⁱ	1,2 ± 0,1 ^g	249,1 ± 8,2 ^{ijk}
		25 MPa /50 °C	2,7 ± 0,1 ⁱ	1,2 ± 0,1 ^g	433,9 ± 24,2 ^{gh}
		25 MPa /60 °C	2,9 ± 0,1 ⁱ	1,3 ± 0,1 ^g	483,6 ± 32,5 ^{fg}
		20 MPa /50 °C	2,83 ± 0,01 ⁱ	1,18 ± 0,05 ^g	171,51 ± 10,1 ^{kl}
		30 MPa /50 °C	2,59 ± 0,01 ⁱ	1,07 ± 0,02 ^g	202,42 ± 12,6 ^{ijkl}
PLE	EtOH	10 MPa /60 °C	1.926,7 ± 13,6 ^a	2.605,7 ± 10,0 ^a	2.281,2 ± 23,7 ^b
		10 MPa /80 °C	1.790,7 ± 27,9 ^b	2.055,9 ± 98,4 ^b	1.409,1 ± 26,4 ^c
		10 MPa /100°C	1.395,0 ± 16,2 ^c	1.943,1 ± 87,5 ^b	1.183,6 ± 18,9 ^d
	EtOH 50%	10 MPa /60 °C	1.265,2 ± 39,1 ^d	1.980,6 ± 9,0 ^b	1.263,0 ± 71,8 ^d
		10 MPa /80 °C	716,8 ± 14,3 ^e	1.608,7 ± 16,3 ^c	649,1 ± 37,8 ^e
		10 MPa /100°C	725,3 ± 30,8 ^e	1.509,5 ± 45,3 ^c	346,7 ± 14,6 ^{hi}
	Água	10 MPa /60 °C	590,0 ± 40,6 ^f	911,0 ± 23,4 ^{ef}	516,9 ± 29,7 ^{fg}
		10 MPa /80 °C	603,3 ± 8,7 ^f	1.120,5 ± 43,7 ^d	672,1 ± 36,7 ^e
SWE	Água	10 MPa /150 °C	636,5 ± 26,0 ^f	1.232,9 ± 30,1 ^d	300,6 ± 19,7 ^{ij}
		10 MPa /170 °C	368,8 ± 27,0 ^h	865,5 ± 14,7 ^f	138,8 ± 7,9 ^l
SOX	HEX	69 °C	1,9 ± 0,1 ⁱ	1,9 ± 0,1 ^g	584,2 ± 23,2 ^{ef}
	EtOH	78 °C	1.935,3 ± 42,5 ^a	2.677,6 ± 66,5 ^a	2.641,2 ± 75,9 ^a

⁽¹⁾ média ± desvio padrão da capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP); Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). SFE: Extração com Fluido Supercrítico; PLE: Extração com Líquido Pressurizado; SWE: Extração com Água Subcrítica; SOX: Soxhlet; EtOH: etanol

Os ensaios DPPH e ABTS apresentaram resultados similares, com valores entre 1,9-1926,7 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ para DPPH, e 1,2 – 2.605,7 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ para ABTS. Esta semelhança se deve ao mecanismo de ação desses ensaios que são governados pela captura dos radicais DPPH e ABTS^{•+} a partir da transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio. O FRAP, ensaio comandado apenas pela doação de elétrons, apresentou valores entre 171,5 – 2.281,2 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$. O maior resultado encontrado em FRAP, em relação ao DPPH e ao ABTS, pode estar relacionado a sua alta capacidade em reagir com antioxidantes como vitamina E, ácido úrico e compostos polifenólicos, como catequinas e outros flavonoides, que estão presentes em elevada concentração na semente de tamarindo (BENZIE; DEVAKI, 2018; MARTINS et al., 2020). Os diferentes resultados entre os testes devem-se às características

estruturais dos compostos e à sua forte ligação com cada um dos radicais, ou seja, a capacidade desses compostos em doar átomos de elétron e/ou hidrogênio (APAK; CAPANOGLU; SHAHIDI, 2018).

A melhor capacidade antioxidante dos extratos de semente de tamarindo, avaliada nos ensaios de DPPH e ABTS, foi obtida na extração PLE-EtOH / 60 °C / 30 min (1.926,7 – 2.605,7 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$), que foi estatisticamente igual ao resultado do extrato obtido em SOX com etanol / 6 h (1.935,3 – 2.677,6 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$). Esse resultado no PLE, comparado ao método de SOX, pode ser explicado pela pressão aplicada ao sistema (10 MPa), que auxilia na ruptura da parede celular e melhora a transferência de massa do soluto para o solvente (HERRERO; GALLEGO, 2019). Os resultados do método FRAP indicam que duas amostras recuperadas por etanol apresentaram maior desempenho antioxidante, SOX-EtOH (2.641,2 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$) seguido de PLE-EtOH a 60 °C (2.281,2 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$). O melhor desempenho do método SOX, em relação ao PLE, pode ser devido à reciclagem do solvente e ao elevado tempo de processo (6 h, comparado a 30 min), o que pode favorecer a extração de várias substâncias como ácidos orgânicos, catequinas, entre outros flavonóides, comumente encontrados em sementes de tamarindo, que interagem com os radicais dos métodos DPPH, ABTS e FRAP (CRAFT et al., 2012; APAK et al., 2016b).

De acordo com HERRERO; GALLEGO (2019), os solventes polares favorecem a extração de compostos fenólicos, taninos e polifenóis, devido a sua alta interação molecular com essas substâncias. O uso desses solventes já foi utilizado com eficácia em outros estudos com a semente de tamarindo. RAZALI et al. (2012), por exemplo, ao compararem o efeito dos solventes metanol, acetato de etila e hexano, revelaram que na extração sólido/líquido realizada à temperatura ambiente por 24h, o solvente metanol apresentou resultados mais elevados para DPPH (2.940 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$), ABTS (2880 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$) e FRAP (1.460 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$), enquanto que o solvente hexano forneceu a menor capacidade antioxidante (310-1.130 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$). Comportamento semelhante foi observado no presente estudo, em que os extratos com maior capacidade antioxidante foram obtidos com a maioria dos solventes polares (etanol, etanol 50% e água) utilizados em PLE e SWE, enquanto a menor capacidade antioxidante foi obtida com os solventes de menor polaridade (hexano e CO₂) usados em SFE e SOX. Os solventes de baixa polaridade são mais seletivos por substâncias como ácidos graxos, carotenoides, ceras e gorduras, que apresentam baixa capacidade antioxidante comparado aos compostos fenólicos (SARAVANA et al., 2018). Assim, a elevada seletividade dos solventes polares, consolidada na literatura, aliada as condições de alta pressão e temperatura, utilizadas

no presente estudo, reduziram o tempo de processo e melhoraram a capacidade antioxidante dos extratos da semente de tamarindo.

Em avaliação do rendimento dos extratos obtidos nas diferentes frações da semente de tamarindo foi observado que o solvente de extração de maior eficiência seria uma mistura hidroalcoólica. Porém, testes de capacidade antioxidante e TPC mostraram que o solvente etanol 99% possui maior seletividade pelos componentes fenólicos responsáveis por esta atividade. Foi observado também que as condições de extração em que a maior capacidade antioxidante foi alcançada corroboram com os dados previamente encontrados em TPC. Assim, em avaliação da relação entre TPC e os ensaios de capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP), por meio da correlação de Pearson, foram obtidas correlações de 0,96 (TPC-DPPH), 0,94 (TPC-ABTS) e 0,78 (TPC-FRAP). A correlação positiva e próxima de 1 entre DPPH e ABTS com TPC mostra que a capacidade antioxidante dos extratos de semente de tamarindo se deve principalmente à presença de compostos que interagem com esses radicais por meio de um mecanismo misto, ou seja, baseado na transferência de átomos de hidrogênio (HAT) e transferência simples de elétrons (SET) (APAK; CAPANOGLU; SHAHIDI, 2018). Essa forte correlação demonstra que a semente de tamarindo é formada por uma fração fenólica com alta capacidade antioxidante, o que sugere o uso dessa matriz como boa fonte de antioxidantes naturais.

3.3.6 Perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa (GC-MS)

A fração lipídica da semente de tamarindo obtida em SFE a 25 MPa (40, 50 e 60 °C), e em SOX com hexano (SOX-Hex) foi avaliada em GC-MS. As condições de SFE foram escolhidas devido a modificação da pressão (200 e 300 MPa) não ter apresentado diferença significativa nas respostas para rendimento, TPC e capacidade antioxidante. Os ácidos graxos foram identificados de acordo com a similaridade dos espectros obtidos em relação ao banco de dados NIST, e os compostos majoritários foram escolhidos de acordo com o percentual de área, conforme apresentado na **Tabela 10**.

Em geral, 10 compostos foram identificados, incluindo ácidos graxos saturados (SFA) e ácidos graxos insaturados (UFA). O óleo de sementes de tamarindo obtido por SFE, para todas as temperaturas, apresentou alto teor de ácidos graxos insaturados (UFA), principalmente as amostras recuperadas a 40 e 60 °C, com cerca de 70 % de UFA, representado principalmente pelo ácido linoléico (9,12-Octadecadienóico (Z, Z)) e ácidos oleico (ácido 9-octadecenóico (Z)), e quase 30 % de ácidos graxos saturados (SFA), particularmente o ácido palmítico (ácido hexadecanóico) e o ácido lignocérico (ácido tetracosanóico). O teor de UFA (Tabela 2) foi

superior ao relatado na literatura (26,4% -55,6%), dentro da faixa de SFA (40,1% -59,7%) de amostras de sementes de tamarindo obtidas por solventes orgânicos (CALUWÉ; HALAMOVIĆ; DAMME, 2010; AZAD, 2018).

O principal ácido graxo da fração oleosa obtido em SFE foi o ácido linoléico. O ácido linoléico é um ácido graxo poliinsaturado (PUFA) que corresponde a 38,8 a 79,4% dos ácidos graxos de diferentes resíduos agroindustriais, sendo essencial para o funcionamento do organismo (RUIZ-RODRIGUEZ; REGLERO; IBAÑEZ, 2010; SILVA; JORGE, 2014). REIS et al. (2016), identificaram diferentes UFA e SFA em semente de tamarindo da variedade doce, recuperadas por SFE com CO₂ a 10, 17 e 25 MPa e 20, 35 e 50 °C, incluindo ácido linoléico. Os autores destacaram a presença de 23,8% de ácido linoléico na amostra recuperada a 25 MPa / 50 °C, valor inferior ao obtido no presente estudo (48,8%), recuperado a 25 MPa / 60 °C. Essa diferença pode ser atribuída às variedades de tamarindo utilizadas e à influência da pressão de vapor do soluto, que aumenta com a temperatura, contribuindo para aumentar o rendimento de extração (MAZZUTTI et al., 2018). Alta solubilidade do ácido linoléico em CO₂ supercrítico foi observada comparando os resultados para SFE 25MPa / 60 °C (48,8%) com SOX-hexano (40,9%).

O segundo composto majoritário foi o ácido oleico (ácido 9-octadecenóico (Z)-), obtido a partir de amostras de SFE (50 e 60 °C) com 20,3 e 21,3%, respectivamente. O ácido oleico é um ácido graxo monoinsaturado essencial (ômega 9) que desempenha um papel fundamental no metabolismo e na síntese hormonal (COSTA et al., 2018). Também foi observado um isômero posicional do ácido oleico, o ácido 7-octadecenóico, a partir de amostras de SFE 40 °C e SOX-hexano, altamente detectado em SOX-hexano (25,5%) provavelmente devido à reciclagem do solvente e o longo processo (6 h) em comparação com o SFE, contribuindo para quebrar a longa cadeia do ácido oleico e para formação do isômero posicional. O ácido oleico e / ou seus isômeros também foram relatados como um dos principais UFA de resíduos agroindustriais, como sementes de graviola e abóbora (SILVA; JORGE, 2014), bagaço de laranja (BENELLI et al., 2010) e também de óleo de semente de tamarindo (SUTRISNO; RETNOSARI; MARFU'AH, 2019). De acordo com BENELLI et al. (2010), o ácido oleico foi associado à atividade antibacteriana, útil para considerar esta fração como ingrediente para alimentos e cosméticos.

Alguns SFA, como os ésteres metílicos do ácido docosanóico (ácido beênico) e ácido tetracosanóico (ácido lignocérico), normalmente encontrados em sementes de frutas e vegetais (HEWAVITHARANA et al., 2020), também foram identificados no óleo da semente de tamarindo. Esses SFA de cadeia longa (ácidos lignocérico, oleico, palmítico, esteárico e

beênico) foram previamente identificados por CHACÓN-FERNÁNDEZ et al. (2019), que relataram o potencial uso de extratos de semente de tamarindo para formulações dermatológicas e medicamentosas devido à alta estabilidade térmica em comparação a outros ácidos graxos de cadeia média (caprílico, cáprico, azelaico e láurico) (SAHLE et al., 2015).

Em geral, os perfis de ácidos graxos das amostras de SFE e SOX-hexano são semelhantes, demonstrando a eficiência da tecnologia verde em obter óleo de semente de tamarindo em um processo rápido (2 h), em comparação com 6h para Soxhlet. A amostra recuperada por SFE a 25 MPa / 60 °C apresentou o perfil de ácidos graxos mais semelhante ao SOX-hexano, utilizado industrialmente. Além do alto teor de UFA da amostra de SFE (73,7%), proporcionando atributos nutricionais e funcionais, alguns SFA também detectados podem estar associados a características para uso farmacêutico e cosmético, por exemplo (RUIZ-RODRIGUEZ; REGLERO; IBAÑEZ, 2010; CHACÓN-FERNÁNDEZ et al., 2019). Assim, devido à versatilidade e alta qualidade da fração oleosa recuperada pelo SFE a 25 MPa / 60 °C, esta condição foi selecionada para realizar o processo de extração combinada proposto no Capítulo 4.

Tabela 10 - Percentual dos principais ácidos graxos identificados na fração lipídica da semente de tamarindo, obtida em SFE e SOX-hexano.

Rt (min)	Ácido graxo	CAS	Fórmula molecular	Área do pico (%)				Referência
				SFE (CO ₂ / 25 MPa)			SOX	
				40 °C	50 °C	60 °C	Hexano	
30.4	Ácido hexadecanoico	000112-39-0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	11,7	11,8	11,7	10,2	(REIS et al., 2016; BAYOÏ; FOUNDIKOU; ETOA, 2021)
33.7	Ácido 9,12-octadecadienóico (Z, Z)-	000060-33-3	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	50,2	32,8	48,8	40,9	(LUZIA; JORGE, 2011)
33.8	Ácido 7-octadecenóico	056875-67-3	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	23,1	ni	ni	25,5	(SUTRISNO et al., 2019)
33.9	Ácido 9-octadecenóico (Z) -	000112-62-9	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	ni	20,3	21,3	ni	(SUTRISNO et al., 2019)
34.1	Estearato de metila	000112-61-8	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	5,1	5,1	4,8	4,1	(BAYOÏ; FOUNDIKOU; ETOA, 2021)
35.2	Ácido docosanoico	000929-77-1	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	2,8	1,9	2,1	3,3	(BAYOÏ; FOUNDIKOU; ETOA, 2021)
37.4	Ácido (Z)-11-eicosenóico	1000333-63-8	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	1,8	1,8	1,8	1,4	(SUTRISNO et al., 2019)
37.6	9-eicosenoato de metila	1000336-50-5	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	ni	ni	1,8	1,4	(SUTRISNO et al., 2019)
38.1	Ácido eicosanoico	001120-28-1	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	2,2	2,4	2,3	1,7	(SUTRISNO et al., 2019)
38.5	Ácido tetracosanoico	002442-49-1	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	ni	4,4	4,8	4,7	(SUTRISNO et al., 2019)

Rt: tempo de retenção; CAS: *Chemical Abstracts Service*; nd: não detectado. SFE: Extração de fluido supercrítico; SOX: Soxhlet;

3.3.7 Perfil químico dos extratos por UPLC-QTOF-MS^E

Uma análise exploratória do perfil fenólico dos extratos de semente de tamarindo obtidos em PLE-etanol / 60 °C (a), PLE-etanol 50% / 80 °C (b), PLE-água / 80 °C (c), SWE /150 °C (d) e SOX-etanol (e) foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta resolução e espectrometria de massa de alta resolução (UPLC-QTOF-MS^E). Estes extratos foram selecionados pelas melhores respostas em TPC e capacidade antioxidante.

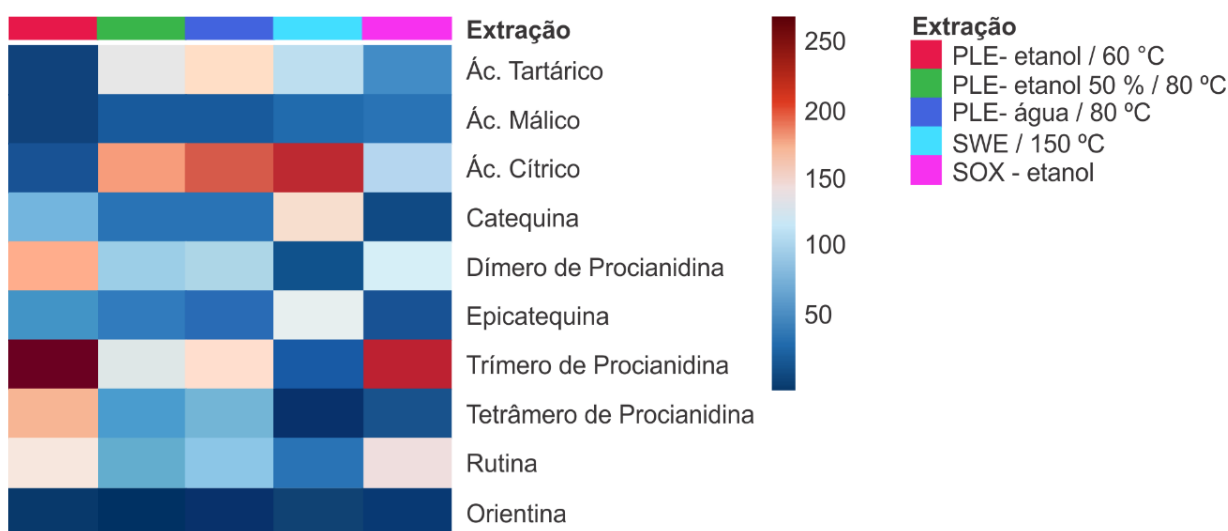
O conjunto de técnicas permitiu a caracterização e a identificação de ácidos orgânicos, procianidinas e outros compostos fenólicos nos extratos. A **Tabela 11** resume a lista de compostos tentativamente identificados, bem como o tempo de retenção (Rt), massas detectadas no modo de ionização negativa $[M - H]^-$, fragmentos dos íons MS/MS, fórmula molecular e referências de caracterização. As informações geradas a partir dos cromatogramas e dos espectros de massa possibilitaram a anotação de 10 metabólitos, presentes em todos os extratos analisados, mas com picos de intensidade diferente entre as amostras, como pode ser observado no mapa de calor apresentado na **Figura 16**, bem como nos cromatogramas do **Apêndice D-Figura D.I**.

Tabela 11 - Compostos tentativamente identificados na fração fenólica de extratos de sementes de tamarindo usando UPLC - QTOF-MS/MS.

Pico	Rt (min)	ESI			Erro (ppm)	Fórmula molecular	Anotação do Pico*	Referência
		MS calculado	MS [M-H] ⁻	MS/MS				
1	1,74	149,0086	149,0083	72,9942; 87,0079	-2,0	C ₄ H ₆ O ₆	Ácido tartárico	(SANG et al., 2019)
2	1,92	133,0137	133,0133	115,0056	-3,0	C ₄ H ₆ O ₅	Ácido málico	(SOBEH et al., 2018)
3	1,93	191,0192	191,0188	111,0078; 173,0082	-2,1	C ₆ H ₈ O ₇	Ácido cítrico	(PRAKASH; BASKARAN; KUDACHIKAR, 2019)
4	5,13	289,0712	289,0713	109,0305; 125,0235; 245,0591	0,3	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Catequina	(PRAKASH; BASKARAN; KUDACHIKAR, 2019)
5	5,35	577,1346	577,1330	289,0699; 407,0765; 425,0901; 451,1141	-2,8	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	Dímero de procianidina Tipo B	(DA SILVA et al., 2017)
6	5,75	289,0712	289,0703	125,0231; 221,0741; 245,0588	-3,1	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Epicatequina	(PRAKASH; BASKARAN; KUDACHIKAR, 2019)
7	5,81	865,1980	865,1940	713,1499; 577,1399; 575,1663; 289,0710	-4,0	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	Trímero de procianidina Tipo B	(DA SILVA et al., 2017)
8	5,92	1153,2614	1153,2659	289,0671; 407,0789; 425,0869; 577,1401; 865,2115	-0,7	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	Tetrâmero de procianidina Tipo B	(DA SILVA et al., 2017)
9	6,65	609,1456	609,1459	151,0353; 179,0516; 271,0182; 343,0855; 300,0247; 301,0312	0,5	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Quercetina-3- <i>O</i> -rutinosídeo (rutina)	(ABU-REIDAH et al., 2015; GUEDES et al., 2020)
10	7,01	447,0927	447,0924	285,0374	-0,7	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Orientina	(FILHO et al., 2020)

*Metabólitos identificados em todas os extratos (PLE-etanol / 60 °C, PLE-etanol 50% / 80 °C, PLE-água / 80 °C, SWE /150 °C e SOX-etanol); Rt: tempo de retenção.

Figura 16 - Mapa de calor baseado na intensidade dos picos cromatográficos obtidos em UPLC-QTOF-MS em modo de ionização negativa ([MH]⁻) referente aos metabólitos anotados nos extratos de sementes de tamarindo.



Fonte: Autor, 2022.

O grupo dos metabólitos fenólicos foi dominante nos extratos da semente de tamarindo (**Figura 16**). Dentre esses compostos, a procianidina apresentou pico de maior intensidade. Uma série de procianidinas originárias da unidade fenólica flavan-3-ol (catequina), principalmente ligadas por meio de uma ligação C4-C8 foi identificada como do tipo B (NETO et al., 2020). Os picos **5**, **7** e **8** identificados como dímero, trímero e tetrâmero de procianidina, respectivamente, apresentaram maior intensidade no extrato etanólico obtido em PLE a 60 °C (**a**). O trímero da procianidina tipo B (pico **7**) foi o pico mais expressivo dentre todos os compostos identificados, bem como nesse extrato. Esse composto também foi observado com alta intensidade no extrato de SOX (**e**). Procianidinas são compostos de alto peso molecular, que em geral têm sua extração intensificada em processos de alta temperatura e pressão, como o PLE, normalmente utilizando solventes de alta polaridade, como a água pura (NETO et al., 2020). Porém, no presente estudo, os extratos aquosos (**c** e **d**) apresentaram picos de baixa intensidade desses compostos. Esta baixa intensidade pode estar relacionada à capacidade das procianidinas em meio aquoso de interagir, por meio de ligações de hidrogênio, com polissacarídeos da parede celular, no presente estudo, principalmente xiloglucanos, de alta concentração na semente de tamarindo (FRANQUIN-TRINQUIER et al., 2014).

Esse estudo é o primeiro relato de identificação de uma série de procianidinas em extratos de semente de tamarindo obtidos a alta pressão. Anteriormente, SUDJAROEN et al. (2005), relataram em extratos de sementes de tamarindo obtidos na extração sólido-líquido com acetona / metanol / água (70: 29: 0,5) a presença de procianidina B2, trímero de procianidina,

tetrâmero de procianidina, pentâmero de procianidina e hexâmero de procianidina. Mais recentemente, CVETANOVIĆ et al. (2020) relataram diferentes concentrações de dímeros, trímeros e tetrâmeros de procianidinas presentes em extratos obtidos por maceração em diferentes temperaturas (20, 40 e 60 °C) e concentrações de uma mistura hidroalcoólica (metanol: água - 30, 50 e 70%). As procianidinas, bem como as moléculas de catequina das quais são formadas, são conhecidas pela elevada atividade antioxidante em extratos vegetais, tendo diferentes ações benéfica à saúde (DZAH et al., 2020).

Os flavonóis catequina e epicatequina, representados pelos picos **4** e **6**, respectivamente, foram identificados em todos os extratos com baixa intensidade (**Figura 16**). Porém, ambos os compostos apresentaram picos de maior intensidade no extrato aquoso obtido em SWE (**d**). A epicatequina, assim como outros compostos que possuem vários grupos hidroxila em sua estrutura, são hidrofílicos e geralmente apresentam maiores solubilidades em soluções aquosas (ALONSO-SALCES et al., 2001). Esses flavonóis também foram identificados com baixa intensidade em extratos da semente de tamarindo obtidos por maceração com metanol por 24h (RAZALI et al., 2015) e com água por 48 h (SORADECH et al., 2016). Em todos esses estudos, a epicatequina esteve associada à atividade antioxidante dos extratos (SARKAR; GHOSH, 2016), bem como a diversas atividades biológicas, como potencial antidiabético (BHADORIYA et al., 2018), antiinflamatório (SUNDARAM et al., 2015) e antidiarreico (GUPTA; GUPTA, 2017).

Dentro do grupo dos compostos fenólicos, o flavonoide quercetina-3-*O*-rutinosídeo (rutina), correspondente ao pico **9** apresentou maior intensidade nos extratos etanólicos obtidos em PLE (**a**) e SOX (**e**). Em processos de alta temperatura, a rutina tem uma solubilidade maior em etanol do que em solventes aquosos (XI; LUO, 2015; GULLÓN et al., 2017). A melhor solubilidade desse composto em solvente alcoólico também foi relatada por CVETANOVIĆ et al. (2020) ao identificar quercetina-3-*O*-rutinosídeo em extrato obtido em condição de maceração otimizada, com temperatura de 23,38 °C e máxima concentração de metanol de 69,99%. Além da rutina, nos extratos do presente estudo foi identificado o flavonoide orientina, correspondente ao pico **10**. Este composto apresentou picos de intensidade intermediária-baixa em todos os extratos, exceto para o extrato de SWE /150 °C (**d**), no qual não foi identificado. A literatura indica que flavonoides, extraídos principalmente de fontes naturais, exercem efeito antioxidante, antiinflamatório e antimicrobiano em produtos farmacêuticos e alimentícios (GULLÓN et al., 2017).

Além dos compostos fenólicos, foram identificados alguns ácidos orgânicos de elevada concentração nos extratos. Destaque especial é dado ao ácido cítrico, que apresentou

pico de maior intensidade nos extratos aquosos (**c** e **d**), sendo o extrato obtido em SWE o de maior intensidade, seguido do extrato hidroalcoólico (**b**) obtido em PLE. O ácido tartárico também apresentou picos de elevada intensidade no extrato aquoso (**c**) e hidroalcoólico (**b**). Apesar da diferença de intensidade dos picos nos métodos de extração, em geral os processos a elevada pressão utilizando especialmente água como solvente contribuíram para a extração dos ácidos orgânicos, antes comumente identificados em extratos de folha (GUMGUMJEE; KHEDR; HAJAR, 2012) e polpa (JANGDEY et al., 2016) de tamarindo, mas dificilmente na semente. De acordo com JÚNIOR et al. (2021), os ácidos orgânicos extraídos dos resíduos agroindustriais são monômeros potenciais para aplicação na indústria de polímeros, contribuindo para a conversão da biomassa dentro de um conceito de biorrefinaria. Esses compostos também podem ser aplicados na indústria de alimentos e cosméticos como um regulador de pH, ou mesmo associados à água para formar solventes acidificados para a extração de antocianinas, proteínas, polissacarídeos e polifenóis (GUO et al., 2015; MAKRIS, 2018).

Em geral, os diferentes compostos fenólicos identificados na semente de tamarindo costumam estar associados à funcionalidade antioxidante desse subproduto (CALUWÉ; HALAMOVÁ; DAMME, 2010). No presente estudo, essa atividade pode ser atribuída em particular às procianidinas e ao flavonoide rutina, que apresentaram picos de maior intensidade nos extratos etanólicos obtidos em PLE, corroborando com os resultados mais expressivos de TPC e capacidade antioxidante obtidos nesse extrato. Assim, a semente de tamarindo pode ser considerada uma fonte de compostos fenólicos, sendo esta avaliação uma perspectiva futura promissora para o ciclo industrial do processamento de tamarindo, uma vez que esses compostos são de alta relevância industrial.

PARTE II

Na **Parte I** deste capítulo foi observado que os extratos aquosos obtidos em SWE e PLE apresentaram bom rendimento, apesar de baixo conteúdo fenólico total e capacidade antioxidante, quando comparado aos extratos alcoólicos. Como foi discutido anteriormente, o maior rendimento pode estar associado com a elevada concentração de carboidratos ($50,8 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e proteínas ($20,7 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) na semente de tamarindo. Assim, a **Parte II** deste capítulo teve como objetivo avaliar a extração de carboidratos totais, ácido urônico e proteínas totais nos extratos aquosos da semente de tamarindo, bem como a extração e a caracterização qualitativa da goma. Além das tecnologias verdes de extração (PLE e SWE) foi realizada

também a extração convencional por agitação a quente (CHSE) com temperatura de 80 °C e razão sólido/líquido de 1:20 e 1:40 (m/v).

3.3.8 Avaliação dos componentes químicos nos extratos aquosos

O efeito das condições de extração no conteúdo de carboidratos totais, ácido urônico e proteínas totais nos extratos aquosos da semente de tamarindo é apresentado na **Tabela 12**.

Tabela 12 - Conteúdo de componentes químicos totais dos extratos aquosos da semente de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (PLE e SWE) e convencional (CHSE).

Extração	Condição de extração	X ₀ (%) ⁽¹⁾	Carboidratos totais (g GE·100 g ⁻¹ e.s) ⁽¹⁾	Ácido urônico (g AG· 100 g ⁻¹ e.s) ⁽¹⁾	Proteínas totais (g·100 g ⁻¹ e.s) ⁽¹⁾
PLE	10 MPa / 60 °C / 1:20 (m/v)	5,8 ± 0,5 ^e	62,8 ± 0,8 ^c	7,8 ± 0,1 ^b	16,1 ± 0,2 ^a
	10 MPa / 80 °C / 1:20 (m/v)	4,4 ± 0,3 ^e	72,9 ± 1,0 ^{ab}	9,2 ± 0,1 ^a	12,2 ± 0,6 ^c
	10 MPa / 100 °C / 1:20 (m/v)	4,4 ± 0,4 ^e	74,6 ± 1,8 ^a	9,3 ± 0,1 ^a	7,8 ± 0,6 ^d
SWE	10 MPa / 150 °C / 1:40 (m/v)	12,7 ± 1,1 ^d	69,9 ± 0,1 ^b	9,1 ± 0,1 ^a	13,9 ± 0,1 ^b
	10 MPa / 170 °C / 1:40 (m/v)	20,1 ± 1,5 ^c	64,2 ± 0,5 ^c	6,8 ± 0,5 ^c	16,9 ± 0,3 ^a
CHSE	0,1 MPa / 80 °C / 1:20 (m/v)	23,6 ± 0,4 ^b	30,6 ± 0,4 ^e	6,7 ± 0,7 ^c	12,8 ± 0,1 ^{bc}
	0,1 MPa / 80 °C / 1:40 (m/v)	27,8 ± 0,1 ^a	37,8 ± 2,1 ^d	8,5 ± 0,4 ^{ab}	13,6 ± 0,1 ^{bc}

⁽¹⁾ média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias (p < 0,05). PLE: Extração com Líquido Pressurizado; SWE: Extração com Água Subcrítica; CHSE: Extração convencional por agitação térmica; e.s: extrato seco; GE: equivalente de glicose; AG: equivalente de ácido D-galacturônico.

O conteúdo de carboidratos totais dos extratos foi avaliado de acordo com curva padrão de glicose (**Apêndice E-Figura E.I** com R² de 0,985), e expresso em g equivalente de glicose (GE) por 100 g de extrato seco. Os dados experimentais demonstram que o aumento da temperatura de extração até certo ponto foi acompanhado por um aumento no conteúdo de carboidratos. Os melhores resultados foram obtidos nos extratos de PLE-80°C (72,9 ± 1,0 g GE·100 g⁻¹ e.s) e PLE-100 °C (74,6 ± 1,8 g GE·100 g⁻¹ e.s), não havendo diferença significativa (p < 0,05) entre eles. SAMAL; DANGI (2014) em estudo de isolamento e caracterização de polissacarídeo da semente de tamarindo reportaram valor de carboidratos totais de 78,4 g GE·100 g⁻¹ e.s após extração com água quente acidificada (ácido cítrico 0,3 % p/p). O resultado

reportado por SAMAL; DANGI (2014) foi semelhante ao obtido no presente estudo em PLE, utilizando apenas água pura a alta pressão (10 MPa), o que representa uma alternativa promissora ao uso de modificadores, como soluções ácidas.

O aumento da temperatura do processo (150 e 170 °C) em SWE, para atingir o estado subcrítico da água, reduziu o conteúdo de carboidratos totais no extrato. Este efeito decrescente pode estar relacionado à alta temperatura de extração, que favorece a maior difusão de outras substâncias, como produtos derivados da reação de *Maillard* (PLAZA et al., 2010a). Além das mudanças irreversíveis que podem ter ocorrido na conformação molecular do polissacarídeo (PLAZA; LUISA, 2019). Essa modificação estrutural pode ser de interesse industrial, por exemplo, GETACHEW; CHUN (2017) demonstraram que a extração em SWE (180 °C-220 °C/ 3-6 MPa) modificou a estrutura molecular do polissacarídeo do grão de café, melhorando sua funcionalidade antioxidante, quando comparado ao extrato convencional obtido com água a 80 °C.

De acordo com YANG et al. (2019) a extração convencional com água quente é o método mais utilizado para a obtenção de polissacarídeos de sementes, devido ao menor custo de processamento. No presente estudo foi observado que apesar do maior rendimento de CHSE-80 °C (23,6 - 27,8 %), o extrato apresentou menor conteúdo de carboidratos totais (30,6 – 37,8 g GE·100 g⁻¹ e.s), quando comparado aos extratos obtidos nas tecnologias verdes de extração (PLE e SWE). Essa diferença entre os métodos de extração pode ser relacionada especialmente a alta pressão (10 MPa), que combinada a elevada temperatura, aumenta a transferência de massa a partir do rompimento das paredes celulares, e a eficiência da extração, sem que seja necessário o uso de modificadores como enzimas ou solução ácida (PLAZA; LUISA, 2019).

Estudos anteriores relataram que após a extração aquosa da semente de tamarindo são obtidas gomas estruturalmente compostas por açúcares neutros (carboidratos totais) e ácidos urônicos, conectados por ligações glicosídicas (MANCHANDA; ARORA; MANCHANDA, 2014). No presente estudo, o conteúdo de ácido urônico dos extratos aquosos da semente de tamarindo foi avaliado de acordo com curva padrão de ácido D-galacturônico (**Apêndice E-Figura E.II** com R²=0,992), e os resultados expressos em g equivalente de ácido D-galacturônico (AG) por 100 g de extrato.

O conteúdo de ácido urônico dos extratos variou entre 6,7 a 9,3 g AG·100g⁻¹ e.s, indicando que polissacarídeos pécnicos podem ser extraídos das paredes celulares da semente de tamarindo. Os melhores resultados foram obtidos nas temperaturas entre 80 e 150 °C, independentemente do método e das condições (tempo e razão sólido/líquido) de extração, os valores encontrados estão dentro da faixa de percentual de ácidos urônicos reportados na

literatura para extratos polissacarídicos da semente de tamarindo (3,4-6,3g AG·100g⁻¹ e.s), obtidos com água quente a 80 °C (SAMAL; DANGI, 2014; MOHAMED; MOHAMED; AHMED, 2015). Esses resultados também são superiores ao que foi reportado em extratos de outras sementes, como de agrião (*Lepidium sativum* L.) (6,7 g AG·100g⁻¹) (BEHROUZIAN; RAZAVI; PHILLIPS, 2014) e chia (5,3 g AG·100g⁻¹) (TIMILSENA et al., 2016), obtidos por extração convencional com água quente. Os resíduos de ácido urônico associados aos polissacarídeos podem alterar as propriedades físico-químicas e a solubilidade dos conjugados de carboidratos, aumentando o seu potencial antioxidante, espessante e estabilizador em alimentos processados (SHARMA et al., 2015; YARLEY et al., 2021).

Além da associação polissacarídeo-ácidos urônicos, o complexo polissacarídeo-proteína solúvel em água também está relacionado com a atividade metabólica dos polissacarídeos em geral (HAO et al., 2020). No presente estudo foi observado que o conteúdo de proteínas totais nos extratos variou entre 7,8 – 16,9 g·100g⁻¹ e.s. Na **Tabela 12** é possível observar que não houve diferença estatística entre os extratos obtidos em CHSE nas razões sólido: líquido 1:20 e 1:40 (m/v). Enquanto que nas tecnologias verdes de extração, o aumento da temperatura em PLE reduziu o conteúdo de proteínas, e em SWE aumentou o conteúdo desse macronutriente. Sabendo que a água nas diferentes temperaturas utilizadas (60-100 °C (PLE) e 150-170 °C (SWE)) pode desempenhar propriedades físico-químicas distintas, e que sistemas pressurizados podem ocasionar a agregação e/ou a desintegração das proteínas por hidrólise (POURALI; ASGHARI; YOSHIDA, 2009), reações diferentes podem ocorrer em cada processo. RAVBER; KNEZ; ŠKERGET (2015), por exemplo, em estudo de extração da semente de girassol com água pressurizada (5-120 min / 1:20 (m/v)), demonstraram que o aumento da temperatura de 60 °C para 100 °C reduziu o conteúdo de proteínas no extrato, devido a menor solubilidade dessas substâncias em temperaturas mais altas. Enquanto que SUNPHORKA et al. (2012) demonstraram que o aumento da temperatura em SWE (150-250 °C/ 0–60 min) favoreceu a solubilidade e a agregação da proteína extraída do farelo de arroz, consequentemente aumentando o seu rendimento proteico.

Apesar das diferenças operacionais entre os métodos, não houve diferença significativa entre os extratos obtidos em PLE (60 °C/40 min) e SWE (170 °C/80 min), demonstrando que se o objetivo fosse um extrato aquoso proteico, ambas as condições são promissoras. A partir dessas condições, foi possível recuperar cerca de 77 % do valor total de proteína (20,7 g·100g⁻¹ m.s) da semente de tamarindo seca e moída. Visando a economia no processo industrial, a extração em PLE é mais viável, devido ao menor tempo e consumo de solvente. No entanto, sabendo que a semente de tamarindo possui proteínas de caráter anfifílico,

devido sua composição de aminoácidos polares e não polares como lisina, ácido glutâmico, ácido aspártico, glicina e leucina (BHATTACHARYA et al., 1994), é possível que nesses extratos distintas proteínas tenham sido extraídas. Assim, de acordo com a aplicação dos extratos, análises adicionais de identificação e quantificação dos aminoácidos são necessárias para determinar qualitativamente a melhor condição de extração da fração protéica.

Considerando que o objetivo principal do presente estudo, que são os carboidratos da semente de tamarindo, e que este é o primeiro relato de extração com água pura pressurizada para a obtenção dessas substâncias, os resultados das tecnologias verdes foram promissores, quando comparado ao método convencional. Dentre as condições a alta pressão, a extração em PLE-80 °C é uma alternativa viável para a obtenção dessas substâncias, devido a recuperação de um maior conteúdo de carboidratos totais, bem como a menor demanda energética, relacionada a tempo (40 min), temperatura (80 °C) e volume de solvente (1:20 (m/v)) utilizado no processo. A partir dessa condição foi possível recuperar 14,5 % do valor total de carboidratos (50,8 g·100g⁻¹ m.s) da semente de tamarindo seca e moída, um percentual mais do que duas vezes superior ao que foi recuperado a partir da extração convencional CHSE na mesma temperatura (7,1 %).

3.3.9 Caracterização da goma da semente de tamarindo integral

3.3.9.1 Rendimento global (X_0)

Considerando que os extratos aquosos da semente de tamarindo obtidos em PLE-80 °C, PLE-100 °C e CHSE-80 °C (1:20 m/v) apresentaram o melhor conteúdo de carboidratos totais, essas condições foram selecionadas para avaliar a extração da goma de tamarindo, após precipitação do extrato aquoso em etanol, conforme fluxograma da Seção 3.2.2.6.

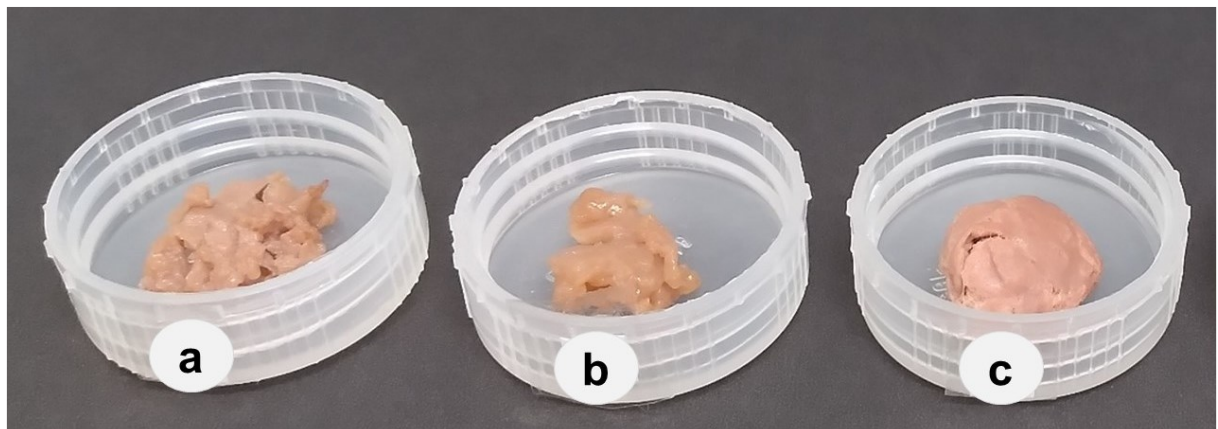
Após precipitação em etanol, lavagem com acetona e secagem, as gomas apresentaram rendimento em base seca de $2,1 \pm 0,1\%$, $2,2 \pm 0,1\%$ e $19,1 \pm 0,8\%$ para PLE-80 °C, PLE-100 °C e CHSE-80 °C, respectivamente. A extração convencional foi a mais eficiente, uma vez que este processo foi realizado no modo estático sob agitação constante no leito de extração, o que auxilia a dispersão e hidratação da matriz, e melhora a liberação da goma (PATIL; JUDGE, 2008). O rendimento de CHSE-80 °C foi compatível com resultados relatados para gomas de outras matrizes, incluindo semente de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.) (18,8%) (NAYAK; PAL; SANTRA, 2015) e semente de *Plantago ciliata* (18,6%) (ADDOUN et al., 2020), também obtidas em CHSE. No entanto, o resultado do presente estudo foi inferior ao de outras extrações da goma da semente de tamarindo (27,9-29,3 %) (ALPIZAR-REYES et al., 2017; CRISPÍN-ISIDRO et al., 2019). Essa diferença no rendimento pode ser

relacionada as operações unitárias envolvidas no processo usado em cada estudo, ALPIZAR-REYES et al. (2017), por exemplo, não precipitou o extrato aquoso em etanol, obtendo uma mucilagem multicomponente, possivelmente de menor pureza, comparada ao do presente estudo; enquanto que CRISPÍN-ISIDRO et al. (2019), após extração com água quente (80°C/30 min) refrigerou o material (extrato+material sólido) (20 °C/24 h) previamente a etapa de precipitação em etanol, o que pode ter influenciado para aumentar a liberação da goma, e consequentemente fornecer maior rendimento.

3.3.9.2 Determinação dos parâmetros de cor

A análise dos parâmetros de cor foi realizada nas gomas de tamarindo seca e úmida. A goma seca, de todas as condições de extração, não apresentou diferença significativa nos parâmetros de cor, o que pode estar relacionado com a condição de secagem utilizada (50 °C/16 h). Em contrapartida, amostras de goma úmida (após imersão em acetona), apresentadas na **Figura 17** relativas à extração com PLE-80 °C, PLE-100 °C e CHSE-80 °C (1:20 m/v), indicam que a goma obtida em CHSE (c) apresentou superfície firme e lisa, comparada as gomas de PLE (a e b). Essa diferença visual também foi observada nos parâmetros de cor L^* , a^* e b^* , como apresentado na **Tabela 13**.

Figura 17- Gomas de tamarindo úmidas obtidas do extrato aquoso de (a) PLE-80°C, (b) PLE-100 °C e CHSE-80 °C após precipitação em etanol.



Fonte: Autor, 2022.

Tabela 13- Parâmetros de cor L*, a*, b* das gomas obtidas da semente de tamarindo integral.

Parâmetros de cor ⁽¹⁾	Condição de extração		
	PLE	PLE	CHSE
	80 °C/ 40 min	100 °C/ 40 min	80 °C/ 60 min
L*	36,9 ± 0,1 ^b	28,8 ± 1,3 ^c	45,2 ± 0,3 ^a
a*	9,1 ± 0,1 ^b	6,4 ± 0,3 ^c	11,67 ± 0,1 ^a
b*	6,9 ± 0,1 ^b	5,5 ± 0,3 ^c	7,7 ± 0,1 ^a
ΔE	63,3 ± 0,1 ^b	70,9 ± 1,4 ^a	55,8 ± 0,3 ^c
C*	11,4 ± 0,1 ^b	8,4 ± 0,4 ^c	14,0 ± 0,2 ^a
h°	37,3 ± 0,3 ^b	41,1 ± 0,1 ^a	33,5 ± 0,2 ^c
Wi	-52,8 ± 0,7 ^b	-54,1 ± 4,5 ^b	-45,4 ± 1,4 ^a
Yi	22,8 ± 0,2 ^a	21,5 ± 1,3 ^a	21,9 ± 0,4 ^a

(1) média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). PLE: Extração com Líquido Pressurizado; CHSE: Extração convencional por agitação térmica. L*: claridade; a*: (verde/vermelho), b*: (azul/amarelo), ΔE: variação de cor, C*: cromaticidade/índice de saturação, h°: ângulo de tonalidade, Wi: índice de branco, Yi: índice de amarelecimento.

Valores de L* (claridade) significativamente mais elevados foram observados na goma extraída em CHSE, seguido de PLE-80 °C e PLE-100 °C, corroborando com os valores de intensidade de cor das gomas, representado por C* (cromaticidade). Esse resultado demonstra que a partir de PLE são obtidas gomas mais escuras, que pode estar relacionado com a eficiência da alta pressão em romper a matriz celular e facilitar a recuperação de diferentes componentes (MUSTAFA; TURNER, 2011), especialmente compostos fenólicos e pigmentos presentes na casca da semente, uma vez que as gomas foram obtidas a partir da matéria-prima integral, sem pré-tratamento para a sua decorticação. NGUYEN; JITTANIT; SRICHAMNONG (2019) demonstraram que após decorticação da semente de tamarindo em micro-ondas a 850 W por 3 min foram obtidas gomas de coloração marrom clara.

A goma obtida em CHSE apresentou coloração vermelho-amarelada de maior intensidade, confirmado pelos valores estatisticamente superiores de a* (11,67 ± 0,1) e b* (7,7 ± 0,1), respectivamente. Os valores da coordenada a* (coordenada verde-vermelho) podem ser associados a pigmentos do tegumento da semente (BAGUL; SONAWANE; ARYA, 2015), enquanto que a coloração amarelada, representada pela coordenada b* (coordenada azul-amarelo), pode estar associada a gorduras compostas por pigmentos (por exemplo, carotenoides) (CRISPÍN-ISIDRO et al., 2019). Do ponto de vista tecnológico, a presença desses pigmentos nas gomas representa um efeito negativo que pode dificultar sua aplicação futura. Dessa forma, são necessárias estratégias de combinação de processos de extração e/ou a

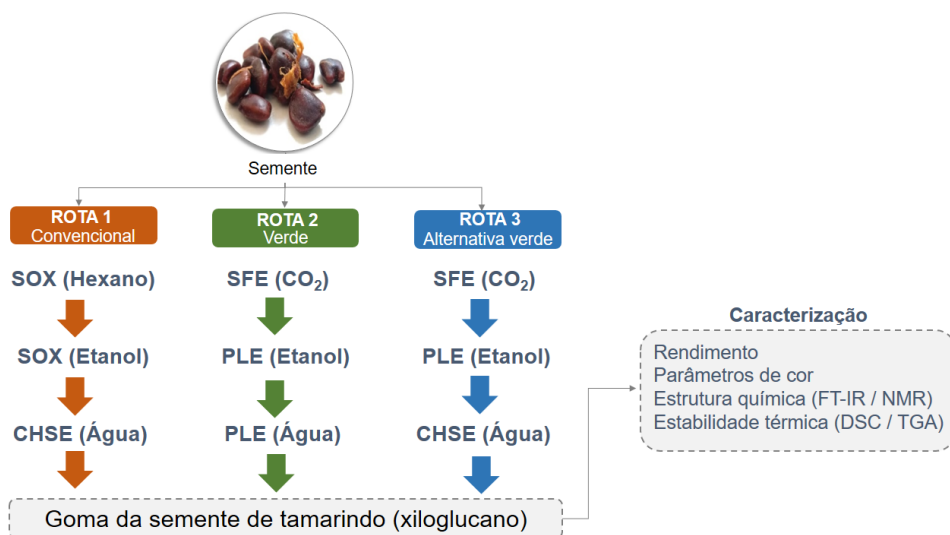
decorticação da semente para a retirada de interferentes de cor e purificação da goma. A influência dessas etapas será abordada em mais detalhes no Capítulo 4.

3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste capítulo, a semente de tamarindo, uma promissora fonte de carboidratos, proteínas e lipídeos, forneceu extratos ricos em compostos bioativos, obtidos eficientemente a partir de métodos de extração a alta pressão. As diferentes condições de temperatura e composição do solvente (CO₂, etanol, etanol / água e água) promoveram forte influência na extração e funcionalidade antioxidante das frações lipídica, fenólica e polissacarídica. A partir do uso de solventes de baixa polaridade, foram obtidos dois tipos de óleo. O óleo obtido em SFE com CO₂ a 25 MPa e 60 °C, apresentou maior porcentagem de ácidos graxos insaturados (70%) (ácidos linoleico e oleico). O óleo obtido em Soxhlet (SOX) com hexano apresentou maior porcentagem de ácidos graxos saturados (54%) (ácido esteárico, beénico, mirístico). A fração fenólica da semente de tamarindo foi eficientemente obtida em PLE com etanol (60 °C e 10 MPa), que apresentou maior TPC e capacidade antioxidante dentre as condições analisadas, além de atividade semelhante ao extrato recuperado em SOX com etanol. A identificação da fração fenólica comprovou a atividade antioxidante do extrato etanólico pela presença, em particular de procianidinas tipo B, rutina e orientina, mas ácidos orgânicos e outros compostos fenólicos também foram identificados em todos os extratos selecionados. A fração polissacarídica com maior conteúdo de carboidratos totais (72,9 g GE·100 g⁻¹) foi obtida pela primeira vez com água pura pressurizada em PLE (80 °C e 10 MPa). Após precipitação em etanol, a caracterização dos extratos demonstrou que uma goma clara de coloração vermelho amarelada e com maior rendimento (19,1%) foi obtida em CHSE (80 °C e 1:20 (m/v)). A extração em PLE, que até o presente momento não havia sido aplicada para a semente de tamarindo, bem como o SFE demonstraram ser tecnologias verdes promissoras para a recuperação de ácidos graxos, compostos fenólicos e polissacarídeos desse subproduto de tamarindo. Dessa forma, as condições de extração selecionadas para esses métodos podem ser utilizadas isoladamente ou combinadas, para potencializar os coprodutos gerados e sua futura aplicação em diferentes setores industriais.

CAPÍTULO 4

Integração dos processos de extração para potencializar a produção de goma da semente de *Tamarindus indica* L.



4.1 INTRODUÇÃO

Os resultados obtidos no capítulo anterior, partindo da semente de tamarindo integral, permitiram selecionar as melhores condições de extração para a obtenção das frações lipídica, fenólica e polissacarídica, de acordo com a atividade funcional do extrato e sua composição química. A recuperação dessas frações, que são de alto valor agregado, sob a abordagem de biorrefinaria em cascata é promissora, possibilitando conservar/potencializar os componentes bioativos, reduzir a geração de resíduos e produzir diferentes coprodutos a partir da integração dos processos (MAZZUTTI et al., 2018; FERRO et al., 2019). Até o presente momento não há relatos de extração sequencial para a obtenção dessas frações, especialmente a fração polissacarídica, na qual se concentra o xiloglucano, principal produto comercial da semente de tamarindo.

Nesse contexto, o objetivo deste capítulo é avaliar a integração dos processos de extração, a partir das condições selecionadas no **Capítulo 3**, para potencializar a extração da goma da semente de tamarindo, com foco no xiloglucano, bem como analisar sua qualidade físico-química. Três rotas de extração (1-Convencional, 2-Alta pressão e 3-Alternativa combinada) são propostas de forma que, as frações bioativas sejam recuperadas em ordem crescente de polaridade. A comparação entre as rotas considerou o rendimento das diferentes frações e a cor da goma. Os componentes polissacarídicos da goma, com foco no xiloglucano (XG) foram avaliados em relação à estrutura química (NMR, FTIR) e comportamento térmico (TGA e DSC). A rota de melhor resposta para a goma em termos de rendimento, cor e caracterização química do xiloglucano foi selecionada para avaliar a fração fenólica quanto a atividade antioxidante e o TPC, e comparar esta fração com os resultados obtidos nas extrações individuais, a partir da matéria-prima integral, apresentados no Capítulo 3.

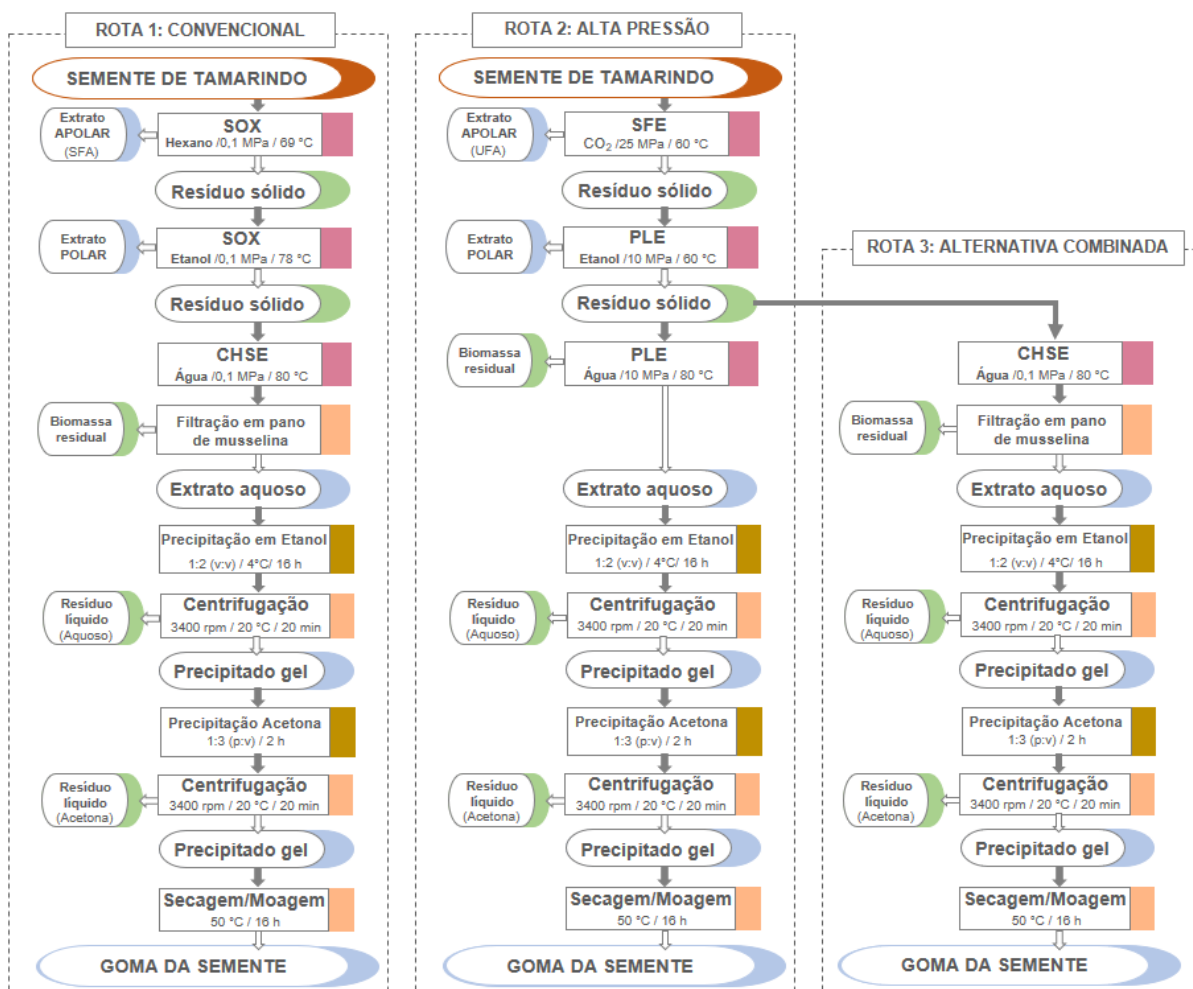
4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Rotas de extração

De acordo com os dados do **Capítulo 3**, três rotas de integração dos processos foram propostas: uma rota convencional (**Rota 1**), correspondente aos métodos convencionais (SOX e CHSE); uma rota a alta pressão (**Rota 2**), que corresponde os métodos SFE e PLE, e uma rota alternativa combinada (**Rota 3**), que integra SFE, PLE e CHSE. As rotas foram propostas de acordo com a polaridade dos compostos a serem recuperados, iniciando com o solvente de menor polaridade (CO₂-SFE ou hexano-SOX), seguido do solvente de média polaridade (etanol-PLE ou SOX) e por fim o solvente de maior polaridade (água-PLE ou CHSE). A **Figura**

18 apresenta o fluxograma esquemático das rotas de extração e suas condições operacionais, bem como os resíduos e os produtos gerados em cada etapa.

Figura 18 - Fluxograma das rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa combinada) para extração da goma de semente de tamarindo e as respectivas condições operacionais envolvidas em cada etapa.



SFE: Extração com Fluido Supercrítico; PLE: Extração com Líquido Pressurizado; SOX: Soxhlet; CHSE: Extração convencional por agitação térmica.

Fonte: Autor, 2022.

4.2.2 Caracterização geral da goma da semente de tamarindo

As rotas foram comparadas em relação ao rendimento global, calculado de acordo com a Equação 6 (Seção 3.2.2.7), e morfologia da superfície da biomassa residual após a extração da goma. Ao final de cada rota de extração, a biomassa residual foi seca a 60 °C por 24 h, fixada em tubos, revestida com uma camada de ouro de 16 nm e analisada sob vácuo em SEM

(microscópio eletrônico de varredura) (JEOL JSM 6390 LV, Musashino, Akishima, Japão). As imagens de SEM foram obtidas com voltagem de 10 KV e aumento de 150 X.

A goma foi caracterizada de acordo com os parâmetros de cor, conforme descritos no Capítulo 3 (Seção 3.2.5.1). Os ensaios foram realizados em triplicata em colorímetro espectrofotômetro CM-5 (Minolta® Color Reader, Osaka, Japão) a partir das coordenadas L*, a*, b* do sistema CIELab.

4.2.3 Caracterização estrutural e térmica da goma da semente de tamarindo

A caracterização da estrutura dos componentes polissacarídicos da goma, com foco no xiloglucano (XG), foi realizada a partir de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectros de ressonância magnética nuclear (NMR), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA).

4.2.3.1 Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A caracterização dos grupos funcionais foi analisada em um espectrômetro infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) (Agilent, modelo Carry 660), de acordo com metodologia proposta por RODRIGUES et al. (2018). As gomas secas foram misturadas com pó de brometo de potássio de grau espectroscópico (KBr) e prensadas, formando pellets. Em seguida, as amostras foram analisadas no módulo de reflectância difusa no intervalo de 400 - 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 128 varreduras.

4.2.3.2 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e termogravimétrica (TGA)

A análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foi realizada em Jade-DSC (Perkin Elmer) (TA Instruments, New Castle, DE, EUA) para a obtenção das curvas de DSC das gomas da semente de tamarindo. Aproximadamente 2 mg de amostra secas em estufa (50 °C por 24 h) foram acondicionadas em cadinhos de alumina, e analisadas sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de ar de 20 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e aquecidas entre 22 °C e 450 °C com taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.

A estabilidade térmica das partículas polissacarídicas das gomas foi avaliada por análise térmica gravimétrica (TGA). As curvas de TGA e termogravimetria diferencial (DTG) foram medidas em STA 449 F3 Jupiter (Netzche, TA Instruments Japan CO., Japan). Previamente aos ensaios, as amostras foram secas a 50 °C por 24h. A análise foi conduzida com $10 \pm 0,1$ mg de amostra em cadinho de alumina, usando atmosfera de nitrogênio com fluxo de

60 mL·min⁻¹, rampa de aquecimento na faixa de temperatura de 30–800 °C e taxa de aquecimento de 10 °C·min⁻¹.

4.2.4 Caracterização da fração fenólica

A fração fenólica da amostra obtida na rota que apresentou as melhores respostas, em termos de rendimento, cor e caracterização química do xiloglucano após caracterização da goma, foi avaliada em relação ao conteúdo de fenólicos totais (TPC) e a atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP), de acordo com metodologia descrita no Capítulo 3 (Seção 3.2.3). Os resultados obtidos com a rota combinada de extrações foram comparados aos dados da extração isolada (Capítulo 3).

4.2.5 Análise estatística

Os resultados do rendimento e cor das gomas foram reportados como média ± desvio padrão, e avaliados por análise unidirecional de variância (ANOVA). As análises foram realizadas no *software* STATISTICA (versão 12) e a diferença significativa entre as amostras foi determinada pelo teste de Tukey, admitindo nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

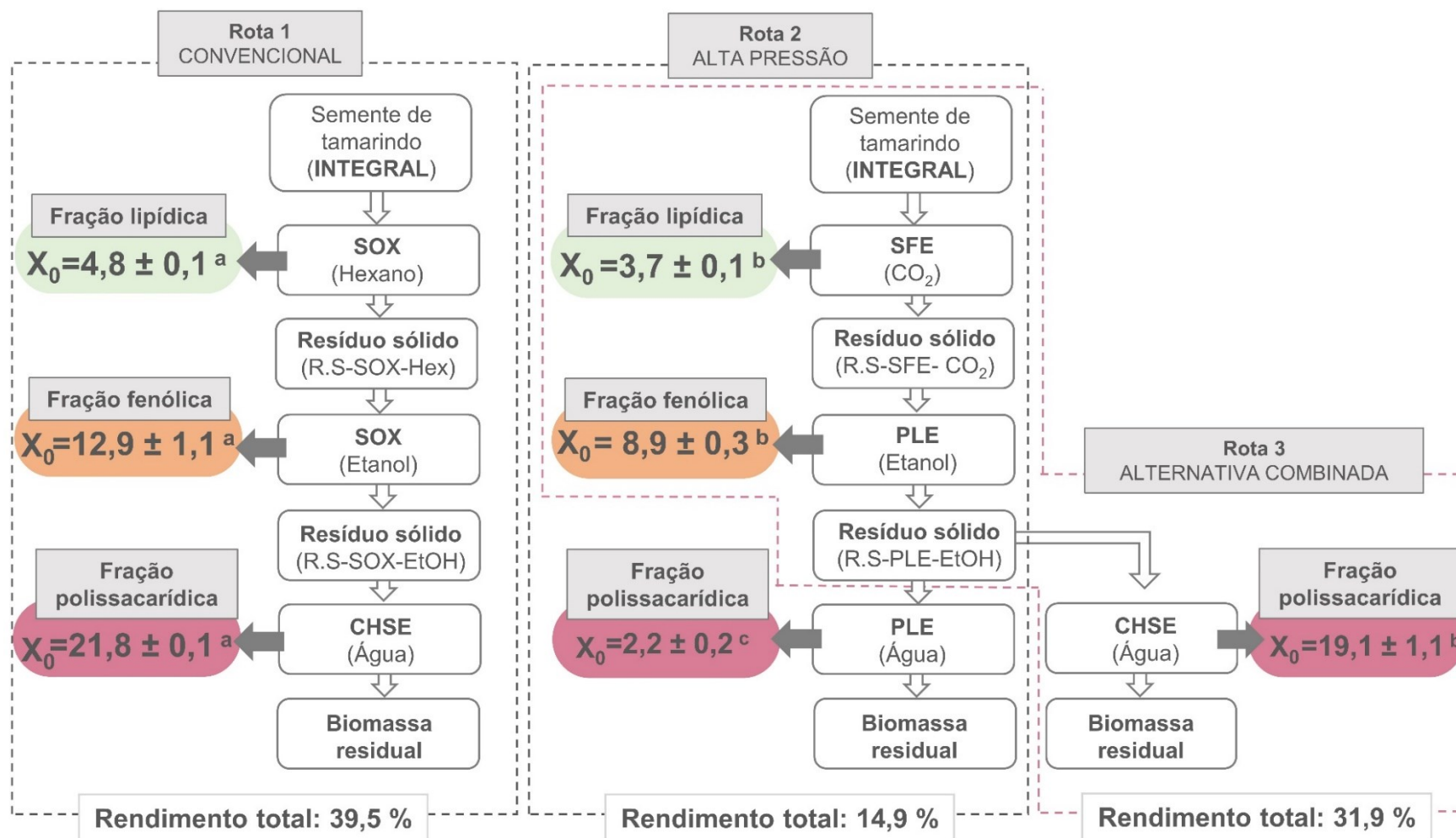
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Efeito das condições de extração no rendimento e na morfologia da biomassa residual

A **Figura 19** apresenta os valores de rendimento global (X_0) de cada etapa das 3 rotas de extração. Maiores rendimentos foram obtidos nas rotas 1 e 3, especialmente na última etapa, representada pelo método CHSE, para a recuperação da goma de tamarindo. A rota 1 apresentou rendimento da goma estatisticamente ($p > 0,05$) maior (21,8 %). Os métodos SOX e CHSE (rota 1) apresentam longos tempos de processo (6 e 1h, respectivamente) e também contemplam recirculação de solvente (SOX) e modo estático (CHSE), que podem contribuir para aumento do rendimento. Em contrapartida, o menor rendimento na última etapa foi obtido por PLE com água da rota 2 (2,3%). Sabe-se que a goma da semente de tamarindo é majoritariamente composta de XG, polímero que em processo dinâmico pressurizado pode se agregar ocasionando o inchaço da matriz, devido a sua alta capacidade de retenção de água, o que dificulta a passagem do solvente no leito de extração, e pode refletir em um menor rendimento (PICOUT et al., 2003; FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). Nesse caso, o uso de modificadores como soluções aquosas ácidas para a extração e/ou um tratamento enzimático no extrato podem ser eficientes para aumentar a recuperação de XG. Segundo

LIMSANGOUAN et al., (2019, 2020), o uso de modificadores pode aumentar o rendimento de XG da semente de tamarindo para até 52,6 %, utilizando extração PLE com água nas condições de 500 MPa, 100 °C por 10 min, e posterior tratamento do extrato líquido com 0,25 ml da enzima protease.

Figura 19 - Rendimento global dos extratos em cada etapa das extrações das rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa combinada).

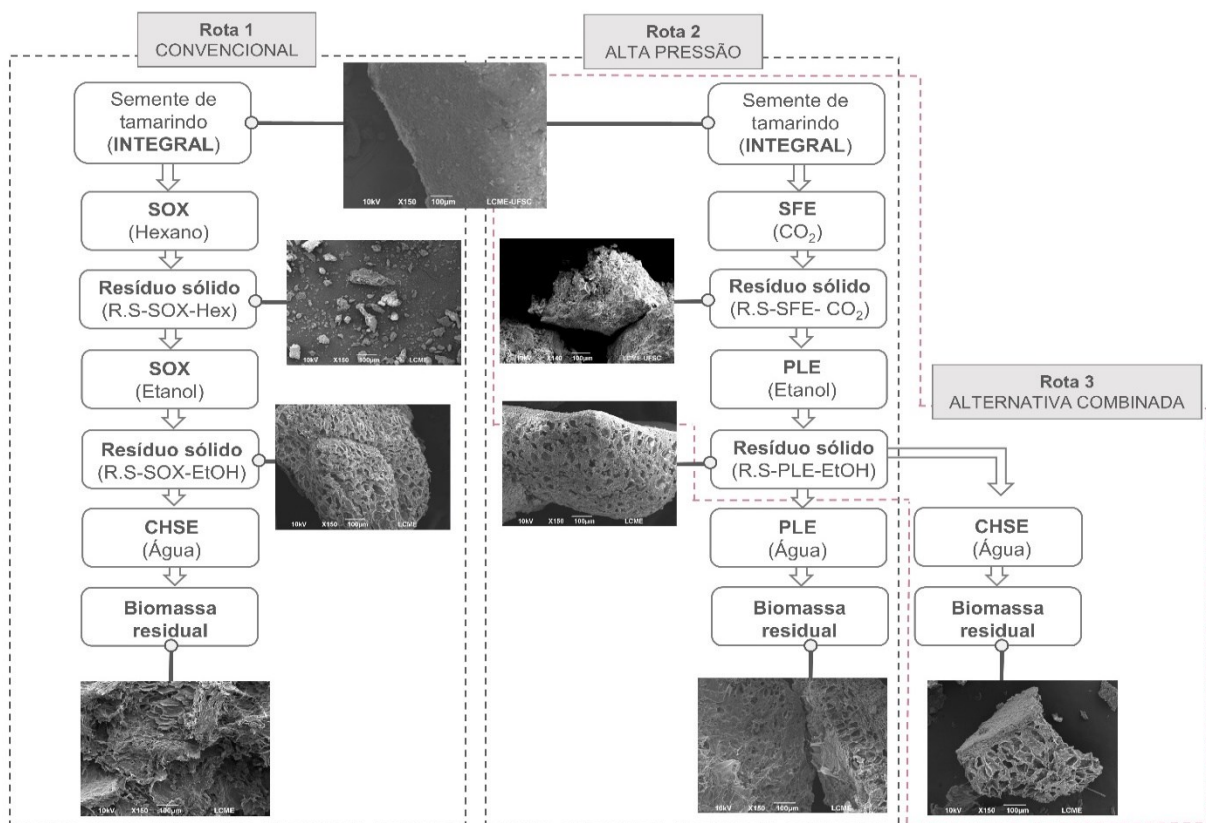


SFE: Extração com Fluido Supercrítico; PLE: Extração com Líquido Pressurizado; SOX: *Soxhlet*; CHSE: Extração convencional por agitação térmica; EtOH: Etanol; Hex: hexano

Fonte, Autor 2022.

As imagens de SEM apresentadas na **Figura 20** mostram o efeito das etapas de extração no material sólido, e corroboram com os maiores rendimentos das rotas 1 e 3 (com CHSE na 3ª etapa de cada rota), pois evidenciam as maiores mudanças estruturais no sólido, indicando uma superfície modificada (em relação ao sólido original), composta por dobras e rupturas intensas. Essa ruptura da estrutura da matriz permite a entrada do solvente nos canais celulares, melhorando a eficiência da extração. Outros estudos de extração que utilizaram a integração dos processos para a obtenção de frações bioativas também relataram maior eficiência de extração (rendimento), bem como melhor atividade funcional dos extratos, comparado aos processos individuais (MAZZUTTI et al., 2018; FERRO et al., 2019). Na rota 2, na qual foram utilizados apenas processos a alta pressão, também são observadas rupturas na matriz, porém, menos expressivas do que nas biomassas das rotas 1 e 3, quando avaliamos as imagens de SEM na 3ª etapa da rota, o que pode ser relacionado com o comportamento do XG a alta pressão, como discutido anteriormente.

Figura 20 - Morfologia das biomassas residuais após cada etapa das extrações das rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa combinada), com ampliação de 150X.



SFE: Extração com Fluido Supercrítico; PLE: Extração com Líquido Pressurizado; SOX: Soxhlet; CHSE: Extração convencional por agitação térmica
 Fonte, Autor 2022.

Considerando que o presente estudo é pioneiro na integração de processos para a obtenção da goma de tamarindo, e que alto rendimento pode não estar relacionado ao alcance de amostras de qualidade, são necessárias análises adicionais das características físico-químicas e estruturais dos componentes polissacarídicos das gomas para direcionar sua aplicação industrial.

4.3.2 Avaliação dos parâmetros de cor das gomas

A **Tabela 14** apresenta os parâmetros de cor das gomas obtidas nas rotas 1, 2 e 3. Os resultados demonstram que a goma da rota 3 (alternativa combinada) é mais clara, com tendência à coloração vermelho esbranquiçado, comprovado pelos maiores valores de L^* (claridade) e W_i (índice de branco) e menores valores de a^* e b^* , respectivamente. De acordo com PATIL; JADGE (2008), gomas de coloração clara são preferíveis industrialmente, devido a sua versatilidade para aplicação em diferentes produtos. CRISPÍN-ISIDRO et al. (2019) reportaram resultado similar ao do presente estudo ao avaliar diferentes pré-tratamentos da semente de tamarindo para a obtenção de XG. Os autores demonstraram que gomas mais claras foram obtidas a partir da semente desengordurada e desproteínada, confirmado pelos valores de L^* significativamente mais altos, quando comparado a goma da semente integral.

Tabela 14 - Parâmetros de cor L^* , a^* , b^* das gomas obtidas nas rotas 1 (convencional), 2 (verde) e 3 (alternativa verde).

Parâmetros de cor	Rotas de extração		
	1 Convencional ⁽¹⁾	2 Verde ⁽¹⁾	3 Alternativa verde ⁽¹⁾
L^*	40,9 ± 0,4 ^b	39,9 ± 0,4 ^c	44,8 ± 0,1 ^a
a^*	3,2 ± 0,2 ^b	11,1 ± 0,1 ^a	3,2 ± 0,1 ^b
b^*	3,6 ± 0,1 ^b	9,3 ± 0,2 ^a	-0,7 ± 0,1 ^c
ΔE	58,6 ± 0,6 ^b	61,1 ± 0,5 ^a	54,6 ± 0,1 ^c
C^*	4,8 ± 0,2 ^b	14,5 ± 0,1 ^a	3,2 ± 0,1 ^c
h	48,5 ± 1,2 ^a	39,9 ± 0,5 ^b	34,7 ± 0,9 ^c
W_i	-19,33 ± 0,1 ^b	-67,9 ± 1,4 ^c	20,4 ± 1,1 ^a
Y_i	11,1 ± 0,2 ^b	27,9 ± 0,4 ^a	-1,8 ± 0,4 ^c

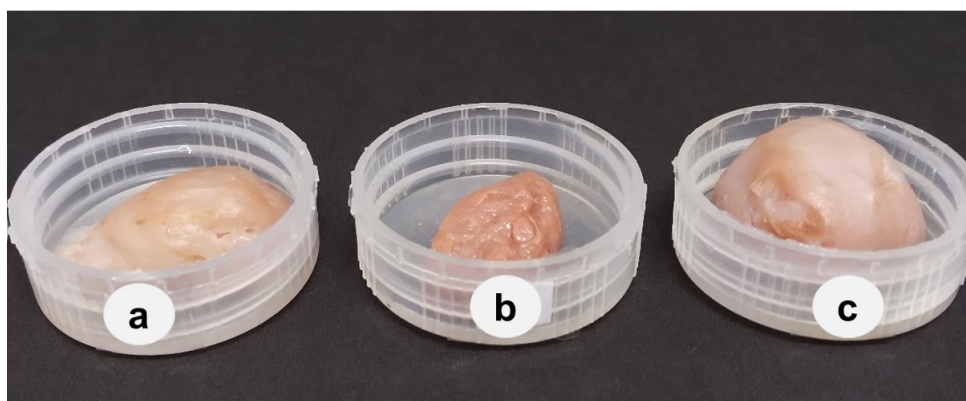
(1) média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). PLE: Extração com Líquido Pressurizado; CHSE: Extração convencional por agitação térmica. L^* : claridade; a^* : (verde/vermelho), b^* : (azul/amarelo), ΔE : variação de cor, C^* : cromaticidade/índice de saturação, h° : ângulo de tonalidade, W_i : índice de branco, Y_i : índice de amarelecimento.

A **Figura 21** apresenta imagem das gomas de tamarindo (rotas 1, 2 e 3) antes da secagem. A goma da rota 2 (alta pressão), comparada com as outras amostras, apresentou coloração mais escura, com menor valor de L^* ($39,9 \pm 0,4$) e valores estatisticamente superiores

de C^* (cromaticidade), a^* ($11, \pm 0,1$) e b^* ($9,3 \pm 0,1$), indicando uma cor vermelho amarelada intensa. Estes valores foram similares à cor da goma obtida a partir da semente integral em PLE- $80^\circ\text{C}/40$ min (processo único) ($L^*= 36,4 / a^*= 9,1 / b^*= 6,9$), como apresentado no Capítulo 3 (Seção 3.3.9.1). Na rota 2 também foi observada a maior variação de cor (ΔE) ($61,1 \pm 0,5$), comparada as gomas obtidas nas outras rotas, o que pode estar associado a presença de alguns compostos (ácidos graxos, fenólicos e pigmentos) recuperados em associação com os carboidratos na etapa de extração da goma com PLE-água, uma vez que essas características de cor não foram observadas na goma obtida com CHSE-água (rota 3), que também passou por processos a alta pressão (SFE e PLE) nas etapas de extração iniciais.

O uso de PLE-água para extrair a goma de tamarindo na rota 2 pode ter favorecido também a formação de produtos da reação de *Maillard*, uma vez que a água quente pressurizada (PLE com água) contribui para a quebra das ligações glicosídicas e associação dos monossacarídeos neutros com aminoácidos, o que favorece a formação de compostos derivados dessa reação, podendo ocasionar uma cor intensa (marrom-avermelhado) na goma (NGUYEN; JITTANIT; SRICHAMNONG, 2019). LIMSANGOUAN et al. (2020) em estudo de extração do XG da semente de tamarindo, também relataram a recuperação de gomas mais escuras na extração à alta pressão ($125 \text{ MPa}/5\text{-}15$ min), quando comparada à extração convencional com água quente ($45 \text{ }^\circ\text{C}/3$ h). Os autores atribuíram o escurecimento da goma como consequência da reação de *Maillard* e a caramelização, mas principalmente devido a reação de escurecimento enzimático, uma vez que as gomas foram tratadas com a enzima protease.

Figura 21 - Gomas de tamarindo úmidas (previamente a secagem) obtidas nas rotas 1- convencional (a), 2-alta pressão (b) e 3-alternativa combinada (c).



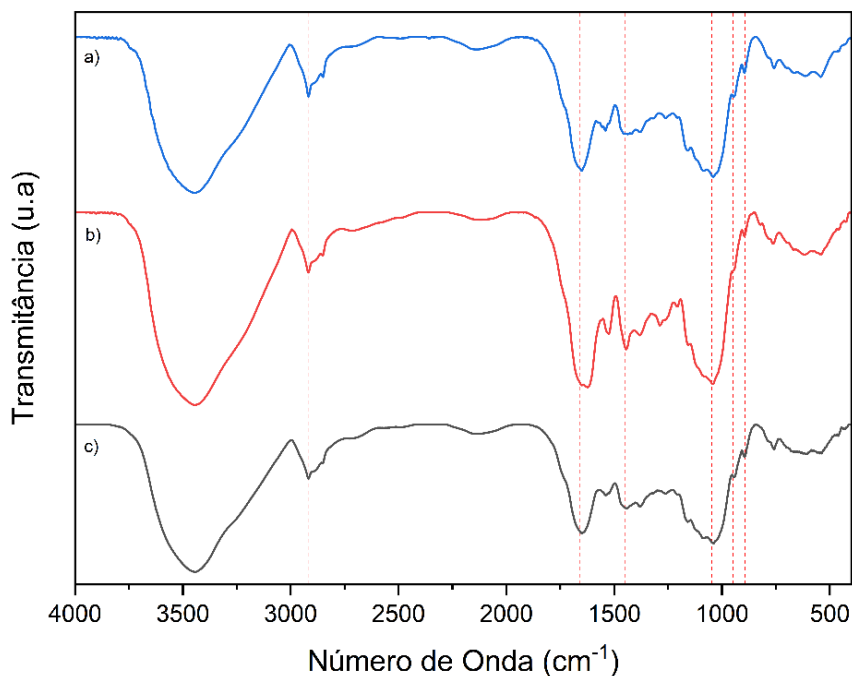
Fonte: Autor, 2022.

A integração dos processos de extração, especialmente processos a alta pressão, apresentaram forte influência na coloração da goma. Assim, visando a aplicação industrial, a goma obtida na rota 3 (alternativa combinada) pode ser uma alternativa promissora tecnologicamente, uma vez que a partir desta combinação de processos (SFE+PLE+CHSE), foi obtida uma goma de coloração vermelha de menor intensidade, quando comparada às gomas das outras rotas (1 e 2) e a goma da semente integral obtida em CHSE-80 °C (processo único) (Seção 3.3.9.1), sendo versátil para aplicação em diferentes produtos.

4.3.3 Caracterização estrutural da goma da semente de tamarindo

O espectro de infravermelho (FTIR) das amostras de goma de semente de tamarindo, obtidas pelas rotas 1, 2 e 3, é apresentado na **Figura 22**. Os espectros FTIR das gomas das três rotas de extração assemelham-se ao de XG, como reportado por RODRIGUES et al. (2018). A primeira região do espectro apresentou uma banda larga em $3446,12\text{ cm}^{-1}$ correspondente ao estiramento vibracional do grupo hidroxila (OH), ligações intra e inter-moleculares que são a base dos carboidratos (KACURAKOVÁ et al., 1998; GETACHEW; CHUN, 2017). A banda vista em $2915,8\text{ cm}^{-1}$ é atribuída a uma fraca vibração de estiramento C-H de alcanos (MISHRA; MALHOTRA, 2012). A banda em 1658 cm^{-1} pode ser atribuída ao ácido carboxílico, com forte alongamento C=O, e ao banda em $1448,2\text{ cm}^{-1}$ corresponde ao grupamento amida, e podem indicar uma impureza de proteínas nas gomas (ALPIZAR-REYES et al., 2017; BINOJ; RAJ; INDRAN, 2018), sendo observada maior intensidade dessas bandas na goma da rota 2.

Figura 22- FTIR das gomas de tamarindo obtidas nas rotas 1- convencional (a), 2-alta pressão (b) e 3-alternativa combinada (c).



Fonte: Autor, 2022.

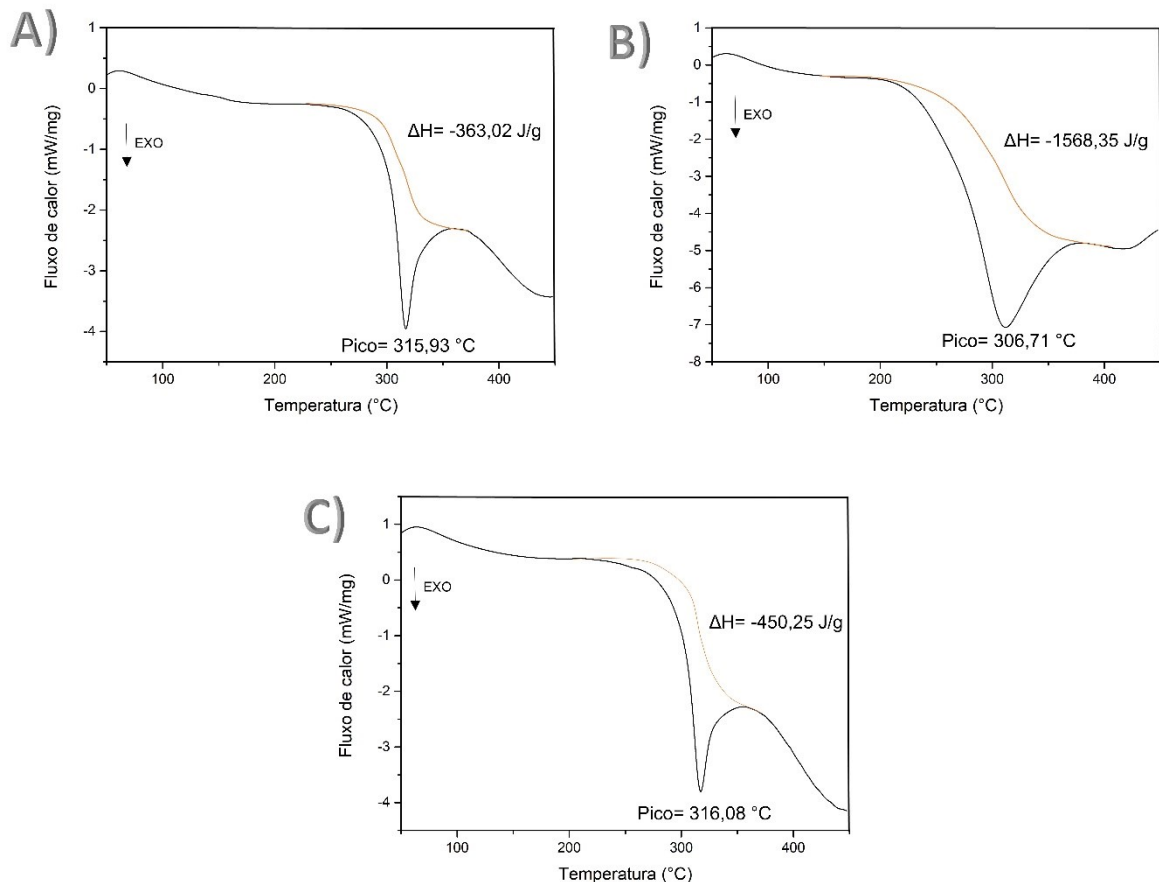
De acordo com RAZAVI et al. (2014) a área entre 800 e 1200 cm^{-1} é banda de absorvância característica de polissacarídeos, conhecida como *fingerprint* (impressão digital). Dentro desta região são observadas as bandas de absorção em torno de 892, 948 e 1047 cm^{-1} , que são características do XG (SZYMANSKA-CHARGOT; ZDUNEK, 2013; ALPIZAR-REYES et al., 2017). As bandas em 1047,14 e 948,79 cm^{-1} são resultado de eventos que ocorrem no anel de XG, relacionados ao estiramento C-O e a vibração do anel, respectivamente, enquanto que ao banda em 892,86 cm^{-1} é atribuída ao estiramento C-H característico de ligações β -glicosídicas (1 \rightarrow 4) entre unidades de glicose e xilose (KACURAKOVÁ et al., 1998; SZYMANSKA-CHARGOT; ZDUNEK, 2013). A presença dessas bandas demonstra que todas as rotas de extração permitem a recuperação de XG, sendo que as gomas das rotas 1 e 3 apresentaram possíveis bandas de interferentes (proteínas, por exemplo) com menor intensidade.

4.3.4 Caracterização térmica da goma da semente de tamarindo

Análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria de varredura diferencial (DSC) foram utilizadas para avaliar o comportamento e a instabilidade térmica das partículas polissacarídicas

presentes na goma da semente de tamarindo. Os perfis de DSC, como mostra a **Figura 23**, exibiram um único pico de transição térmica na faixa de temperatura entre 250-350 °C. Os termogramas das gomas das rotas 1 e 3 (**Figura 23A e C**) mostram uma transição exotérmica com temperatura do pico de 3015 e 316 °C, e calor de decomposição de $-363,02 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ e $-450,25 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente. Na goma da rota 2 também foi observado um evento exotérmico (**Figura 23B**), em temperatura mais baixa, com pico em 306 °C, e maior variação de entalpia de $-1568,35 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. ALPIZAR-REYES et al. (2017) ao caracterizarem goma da semente de tamarindo, também reportaram por análise de DSC um evento exotérmico com pico em 310 °C e entalpia de $-130,80 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$, ao qual os autores atribuíram à decomposição térmica do XG. Outros autores reportaram comportamento exotérmico, semelhante ao do presente estudo, relacionado à degradação de polissacarídeos da goma arábica (com pico de temperatura de 322,7 °C) (ZOHURIAAN; SHOKROLAHI, 2004) e do XG da semente de tamarindo (temperatura acima de 227 °C) (MISHRA; MALHOTRA, 2012).

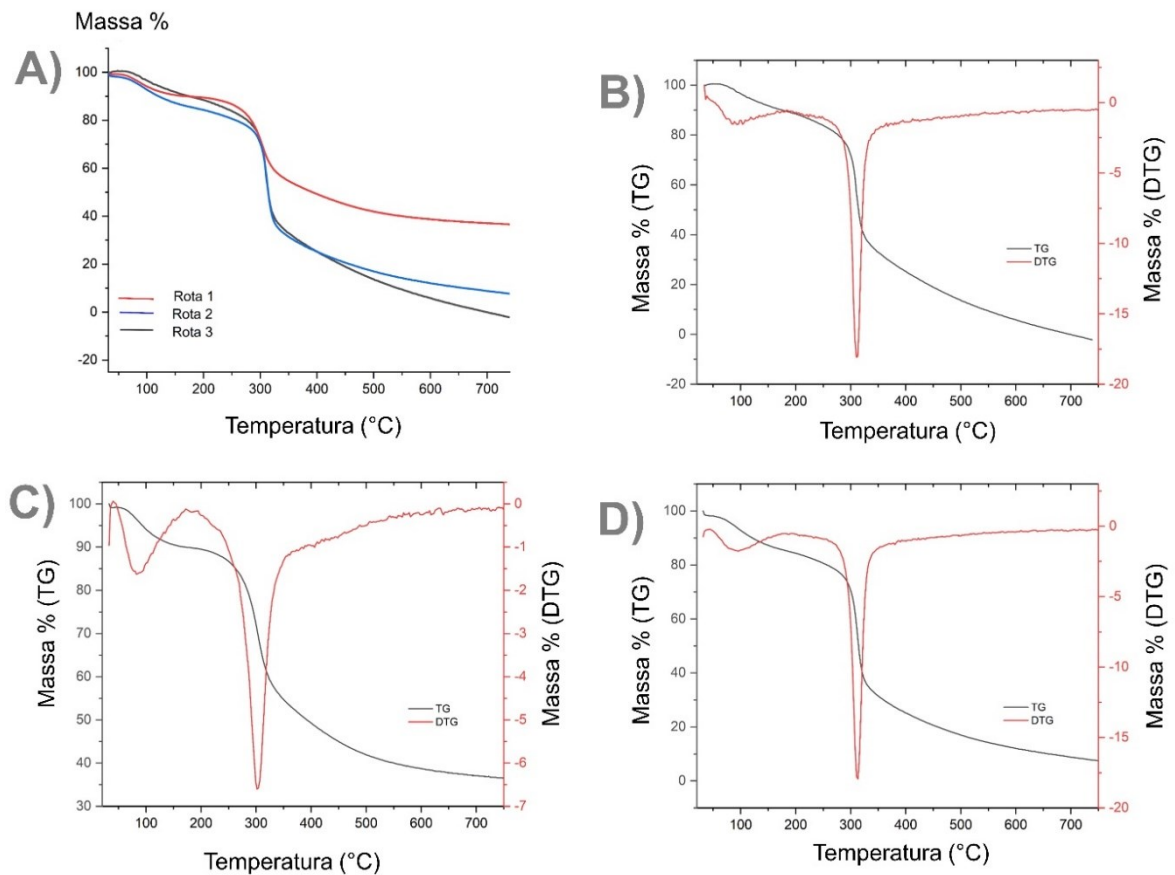
Figura 23 - DSC das gomas de tamarindo obtidas nas rotas 1- convencional (A), 2-alta pressão (B) e 3-alternativa combinada (C), na faixa de temperatura de 22-450 °C.



Fonte: Autor, 2022.

A análise termogravimétrica (TG) e sua derivada (DTG), apresentadas na **Figura 24**, demonstram que os sinais termogravimétricos das gomas das três rotas de extração foram semelhantes, resultando em dois eventos de perda de massa. A primeira região (abaixo de 170 °C) está associada à perda de água adsorvida pelas partículas polissacarídicas, com perda de massa de 6,8, 9,9 e 8,6 %, para as rotas 1, 2 e 3, respectivamente (BINOJ; RAJ; INDRAN, 2018; CRISPÍN-ISIDRO et al., 2019). A segunda variação de massa correspondeu a decomposição térmica do polissacarídeo ocorrida em temperaturas a partir de 307,1 °C para rota 1 (Y=19,3 %); 277,4 °C para rota 2 (Y=13,7 %) e 300,3 °C para rota 3 (Y=21,6 %), corroborando com os resultados de DSC. Comportamento de perda de massa com temperatura semelhante foi observado em goma de jatobá (297 °C) (FARIAS et al., 2018), de cajueiro-japonês (*Hovenia dulcis*) (230 °C) (YANG et al., 2019), de tamarindo (276-280 °C) (CRISPÍN-ISIDRO et al., 2019) e em goma xantana (330 °C) (ZOHURIAAN; SHOKROLAHI, 2004).

Figura 24 - Análise termogravimétrica (TG) das gomas de tamarindo obtidas nas três rotas (A). Curvas de TG+DTG das gomas obtidas nas rotas 1- convencional (B), 2-alta pressão (C) e 3-alternativa combinada (D).



Fonte: Autor, 2022.

Os resultados da **Figura 24** demonstram que as gomas obtidas nas três rotas apresentaram alta estabilidade térmica do polissacarídeo, sugerindo que as partículas de mucilagem da semente de tamarindo obtidas nessas condições são altamente termoestáveis. Devido a sua degradação térmica ocorrer em temperatura a partir de 300 °C, o XG presente nas gomas torna-se atraente para aplicação em processos de elevada temperatura, como agente estabilizante de alimentos e bebidas processados, e na formulação de emulsões filmogênicas e embalagens biodegradáveis, sem que sua estrutura e funcionalidade sejam modificadas.

4.3.5 Caracterização da fração fenólica

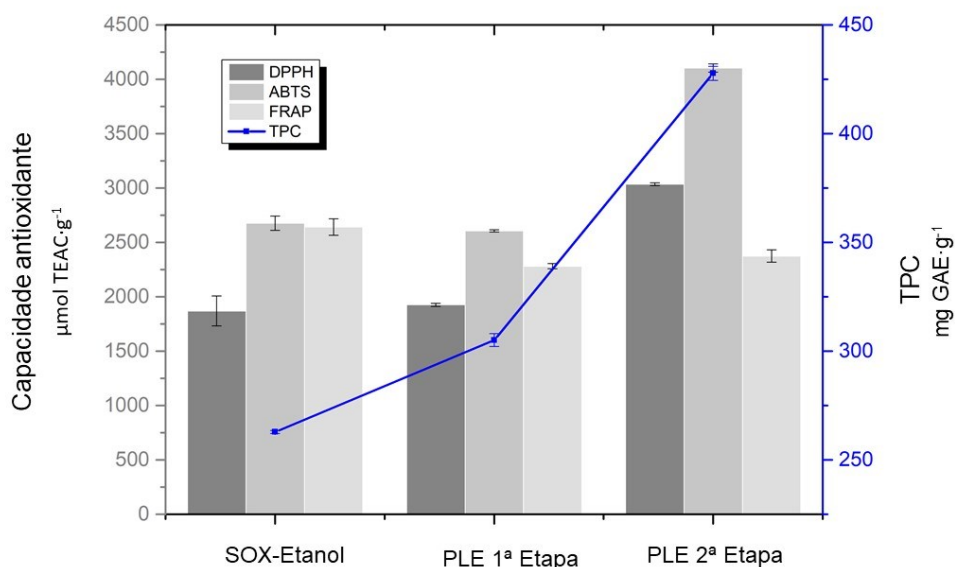
A partir da caracterização das gomas, foi observado que o uso de CHSE nas rotas 1 e 3 forneceu gomas com estrutura muito semelhante. Embora a rota 1 (SOX+SOX+CHSE) resulte em maior rendimento em cada uma das frações, comparado com as demais rotas, a rota 3 (SFE+PLE+CHSE) parece ser uma alternativa viável, devido a qualidade das frações iniciais (oleosa e fenólica) ricas em compostos de alto valor agregado (observada no Capítulo 3), bem como da goma (fração polissacarídica) de coloração clara e termoestável, de interesse industrial. Para completar a comparação entre processo integrado e processo individual, a fração fenólica obtida na rota 3 (etapa 2) foi caracterizada em termos de capacidade antioxidante e conteúdo total de fenólicos. Esta fração foi comparada com os extratos obtidos por SOX-etanol e PLE (Etanol/ 10 MPa/60 °C), a partir de processos individuais realizados com a semente de tamarindo integral (resultados apresentados no Capítulo 3), para avaliar a eficiência da combinação dos processos.

A **Figura 25** mostra os resultados de TPC e capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) das frações etanólicas (SOX e PLE-1^a etapa) obtidas da semente de tamarindo integral, comparado com PLE-2^a etapa, obtido da semente desengordurada por SFE, referente a segunda etapa da rota 3. O rendimento da fração fenólica por PLE-2^a etapa foi estatisticamente maior ($p < 0,05$) do que os processos individuais. O melhor desempenho do PLE-2^a etapa também é observado pelos valores de DPPH e ABTS. Esses resultados podem estar associados à ruptura celular durante a despressurização do SFE, favorecendo a solubilização dos componentes fenólicos, que apresentam potencial antioxidante.

Os resultados de FRAP (**Figura 24**) não apresentaram diferença significativa entre as amostras de PLE (1^a e 2^a etapas). A localização celular dos componentes bioativos e suas características químicas (fórmula, tamanho e polaridade) afetam a capacidade antioxidante (CRAFT et al., 2012). Assim, compostos como vitamina E e ácido úrico (de sementes de

tamarindo, livres ou ligados), que respondem ao método FRAP, podem estar presentes em ambos os extratos (PLE 1ª e 2ª etapas) (BARTOSZ, 2010).

Figura 25 - Teor de fenólicos totais e a capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) dos extratos etanólicos obtidos por SOX e PLE-1ª etapa (10 MPa/60 °C), com a semente de tamarindo integral, e PLE-2ª etapa (SFE: 25 MPa/60°C + PLE: 10 MPa/60°C), obtido na rota 3.



Fonte: Autor, 2022.

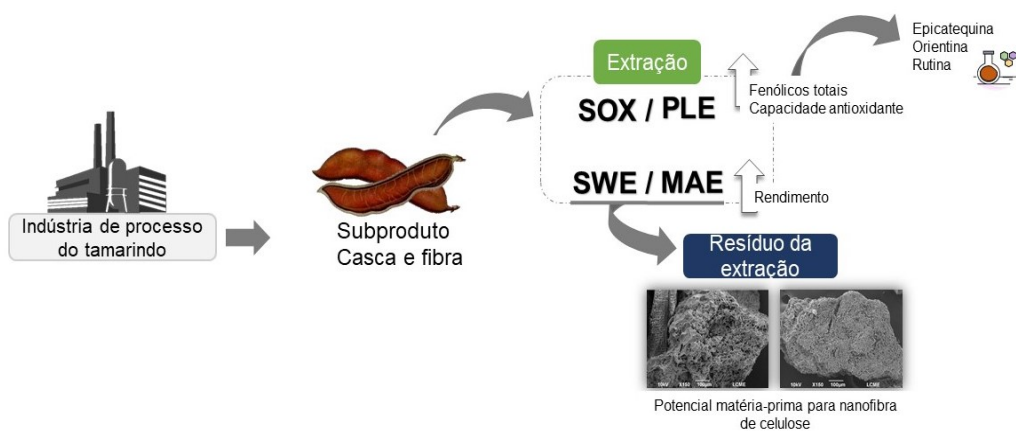
A combinação de processos a alta pressão (SFE seguido de PLE) para fracionar compostos de tamarindo é uma inovação que resultou em melhores valores de TPC, variando de $305,1 \pm 2,9$ mg GAE·g⁻¹ (PLE 1º etapa) para $427,8$ mg GAE·g⁻¹ (PLE 2ª etapa). Em um processo de 2,5 h (SFE + PLE) foi obtido resultado semelhante ao de CHUNGLOK et al. (2014) ($501,9$ mg GAE·g⁻¹) após 12 h de extração sequencial da semente em Soxhlet com hexano e metanol. Assim, considerando a abordagem de integração dos processos, foi possível fracionar eficientemente a matéria-prima (semente de tamarindo) recuperando três importantes frações: (1) fração oleosa SFE, rica em PUFA (Seção 3.3.7), (2) fração fenólica PLE com alto potencial antioxidante (Seção 4.3.5), e (3) fração polissacarídica CHSE, composta de XG com alta estabilidade térmica (Seção 4.3.4).

4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A integração dos processos de extração, bem como o uso de alta pressão apresentaram forte influência nas características físico-químicas e estruturais da goma da semente de tamarindo. Apesar da goma da rota 1 (SOX + SOX + CHSE) ter apresentado maior rendimento (21,8), a goma da rota 3 (SFE + PLE + CHSE) apresentou coloração vermelho de menor intensidade e as maiores mudanças estruturais na biomassa residual, confirmadas pelas imagens SEM, indicando maior pureza da goma, e sua possível aplicação industrial. No espectro de FTIR, as bandas observadas entre 892-1047 cm^{-1} , confirmaram a presença de xiloglucano nas partículas das gomas, o que foi corroborado pelos resultados de DSC e TGA. A melhor estabilidade térmica (até 300 °C) foi observada nas gomas das rotas 1 e 3, indicando sua possível aplicação em revestimento de cápsulas e no desenvolvimento de produtos gelatinosos alimentícios, por exemplo. Dentre as rotas propostas, a alternativa verde (Rota 3) pode ser uma estratégia escalonável industrialmente, devido a coloração e a melhor estabilidade térmica da goma, e ao aumento do desempenho antioxidante da fração fenólica e qualidade do extrato oleoso. Dessa forma, partindo dessa rota, 1 t de semente de tamarindo, pode levar à produção de 37 kg de ácidos graxos, 90 kg de extrato rico em fenólicos, 191 kg de goma, composta especialmente pelo xiloglucano, como foi observado a partir da sua caracterização estrutural.

CAPÍTULO 5

Casca de tamarindo (*Tamarindus indica* L.): biomassa lignocelulósica fonte de compostos fenólicos



5.1 INTRODUÇÃO

A casca de tamarindo, como foi apresentado no Capítulo 2, é um subproduto do processamento deste fruto pouco explorado em relação ao seu potencial bioativo e composição química. De acordo com MARTINS et al. (2020), a casca de tamarindo é uma biomassa lignocelulósica formada por hemicelulose (11,0 %), celulose (72,8 %) e lignina (15,4%), sendo utilizada como ração animal, reforço polimérico, base têxtil ou pigmentação dos mesmos. Relatos da literatura indicaram a presença de terpenos (SHIRISHA; VARALAKSHMI, 2016), polifenóis (GANESAPILLAI; VENUGOPAL; SIMHA, 2017) e saponinas (SONI; SINGH; SINGH, 2018) na composição da casca de tamarindo.

Compostos fenólicos foram obtidos da casca de tamarindo pelo método Soxhlet (ATAWODI; LIMAN; ONYKE, 2013) e por maceração (SUTRISNA et al., 2015), embora estas técnicas sejam difundidas (**Capítulo 2**), os processos demandam elevado tempo e normalmente fornecem extratos de baixa seletividade (MARENDA et al., 2019). Desta forma, tecnologias verdes a alta pressão, como PLE, SWE e MAE são alternativas ambientalmente seguras e seletivas aos compostos fenólicos (RODRIGUES et al., 2020). No caso de matrizes lignocelulósicas, como a casca de tamarindo, as técnicas a alta pressão podem atuar também na extração da lignina e no rompimento da fibra, atuando como pré-tratamento da matriz no processo de extração de nanofibra de celulose. Até o presente momento não há relatos na literatura do uso de tecnologias verdes de extração para a recuperação de compostos fenólicos da casca de tamarindo e do pré-tratamento a alta pressão desta matriz lignocelulósica para a obtenção de nanofibra de celulose.

Nesse contexto, o objetivo deste capítulo é a recuperação de compostos fenólicos da casca/fibra de tamarindo, visando avaliar a eficiência das tecnologias verdes de extração (PLE, SWE e MAE), em comparação ao SOX-etanol. A comparação considerou o rendimento da extração, enquanto os extratos recuperados foram avaliados quanto ao conteúdo fenólico total (TPC) e a capacidade antioxidante. O perfil químico dos extratos foi avaliado por UPLC-QTOF-MS. Sendo este o primeiro estudo de extração com tecnologias verdes para a valorização da casca/fibra de tamarindo, os resíduos das extrações aquosas que apresentaram melhores respostas na etapa inicial foram analisados em microscopia eletrônica de varredura (SEM) para avaliar a eficiência da alta pressão em romper as fibras.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Caracterização da matéria-prima

Após processamento do tamarindo, casca + fibra foram lavados com água destilada para retirada de pó e outros resíduos. Em seguida, o material foi seco em estufa de circulação e renovação de ar a 60 °C por 8h. Esta condição foi determinada com base em dados da literatura sobre processamento de resíduos de tamarindo (JANGDEY et al., 2016; SARKAR; GHOSH, 2016; GUPTA; GUPTA, 2017). Então, o material, contendo casca + fibra, foi moído em moinho de facas (Marconi/De Leo, Porto Alegre, Brasil) com malha de 2 mm. A matéria-prima seca e moída foi acondicionada em recipiente hermeticamente fechado e armazenada a -18 °C.

O diâmetro médio das partículas foi determinado com base nas equações propostas por GOMIDE (1980) (Seção 4.2.1.1). A composição proximal da casca de tamarindo foi realizada similarmente como foi descrito para a semente (Seção 4.2.1.2). Basicamente, foi determinado o teor de umidade (AOAC, 1925), cinzas (AOAC, 1997), lipídios (AOAC, 2000), proteínas totais (método Kjeldahl), fibra bruta (AOAC, 2010) e teor de carboidratos totais (analisado por diferença). Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em g·100 g⁻¹ de amostra seca.

5.2.2 Métodos de extração

5.2.2.1 Extração Soxhlet (SOX)

A extração Soxhlet (SOX) foi realizada com base no método AOAC 930.39 (AOAC, 2012) com modificações. Neste método foi usado etanol como solvente. Inicialmente, pesaram-se 5 g da casca/fibra seca e moída em cartucho de papel de filtro e adicionaram-se em um balão de destilação com 150 ml do solvente. O processo foi realizado na temperatura de ebulição do etanol (~78 °C), com 10 ciclos contínuos por hora, no total de 6h de processo. Em seguida, a solução soluto/solvente foi concentrada a vácuo em evaporador rotativo (Fisatom, 802, Brasil) na temperatura de 40 °C. Os ensaios foram realizados em triplicata e os extratos secos foram armazenados em frasco âmbar a -18 °C até análises.

5.2.2.2 Extração com líquido pressurizado (PLE)

Os ensaios em PLE foram realizados em unidade montada no LATESC, descrita em detalhes na Seção 3.2.2.3. Previamente aos ensaios em PLE, foi determinada a curva cinética de extração (CCE) para os solventes etanol (EtOH) e mistura etanol: água a 50% (v/v) (EtOH 50%). A CCE do PLE foi realizada em 10 MPa, 80 °C e vazão do solvente de 4 mL.min⁻¹. Os frascos de coleta, previamente pesados, foram coletados em intervalos de tempo de 5, 10 e 20

min, até 46 min de extração. Os pontos experimentais da CCE, no total de 15 pontos, foram ajustados em *software Origin* de acordo com as **Equações 3-5**, para identificar as etapas de extração CER, FER e DC do processo (descritas na seção 2.2.2.1.1), e plotar uma curva da relação entre a massa acumulada de extrato *versus* o tempo de extração.

Os ensaios de PLE foram realizados de forma dinâmica. Basicamente, 8 g de casca/fibra foram misturadas com 80 g de esferas de vidro e adicionados no leito de extração. Foi avaliada a influência dos solventes EtOH e EtOH 50% sob diferentes temperaturas (60, 80 e 100 °C), pressão de 10 MPa, vazão do solvente de 4 mL.min⁻¹ e tempo de 25 min, determinado de acordo com CCE, para ambos os solventes. As condições de pressão e temperatura foram baseadas em outros estudos com casca de resíduos agroindustriais (MAZZUTTI et al., 2018; SANTOS et al., 2019b). Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Após a extração, a solução resultante foi concentrada a vácuo para remoção do solvente, e os extratos secos foram acondicionados em frasco âmbar e armazenados a -18 °C até análises.

5.2.2.3 Extração com Água Subcrítica (SWE)

Os ensaios em SWE foram realizados em unidade montada no LATESC, descrita em detalhes na Seção 3.2.2.3. A CCE foi realizada, previamente aos ensaios SWE, para determinar o tempo de extração, e conduzida a 10 MPa, 130 °C e vazão de água de 4 mL.min⁻¹. Os frascos de coleta foram previamente pesados e a coleta dos extratos realizada em intervalos de tempo de 5 e 10 min, totalizando 60 min de extração, correspondente a 21 pontos. Os dados da CCE foram ajustados em *software Origin*, de acordo com as **Equações 3-5**, para verificar as fases CER, FER e DC do processo.

Os ensaios de SWE foram realizados de forma dinâmica com 8 g de casca/fibra misturadas com 80 g de esferas de vidro e dispostas no leito com algodão nas extremidades para evitar a passagem de sólidos para a linha de extração. A água, utilizada como solvente, foi previamente deixada em banho ultrassônico por 30 min, em seguida filtrada em papel de filtro para a retirada de sujidades. Diferentes condições de temperatura foram avaliadas, de 130, 150 e 170 °C, na pressão de 10 MPa, vazão do solvente de 4 mL.min⁻¹ e tempo de 35 min (definido pela CCE). Os ensaios foram realizados em triplicata. Após a extração, as amostras foram liofilizadas (Liotop, modelo LD101, São Paulo, Brasil) por 48 h e os extratos secos acondicionados em frasco âmbar e armazenados a -18 °C até análises.

5.2.2.4 Extração Assistida por Micro-ondas (MAE)

A extração assistida por micro-ondas (MAE) foi realizada em extrator Monowave 200 (Anton Paar, Graz, Áustria). O MAE foi realizado no modo estático com os solventes EtOH 50% e água, que apresentaram melhores rendimentos em PLE e SWE, respectivamente. O tempo de extração em MAE foi determinado a partir da CCE para cada solvente. A CCE foi realizada com razão casca/solvente de 1:15 (m/v), temperatura de 80 °C para EtOH 50% e 130 °C para água. Os frascos de coleta foram previamente pesados e a coleta das amostras realizada em intervalos de tempo de 2, 3 e 5 min, totalizando 30 min de extração (10 pontos). Os dados da CCE foram ajustados em *software Origin*, de acordo com as **Equações 3-5**.

Os ensaios em MAE foram realizados com 1g de amostra adicionada ao frasco de extração juntamente com um agitador magnético e 15 mL de solvente. Para o EtOH 50% foram avaliadas as temperaturas de 60, 80 e 100 °C com tempo de 13 min (determinado pela CCE). Para a água foram avaliadas as temperaturas de 110, 130 e 150 °C com tempo de 16 min. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Após o período de extração, os extratos hidroalcoólicos foram concentrados a vácuo, e o extrato aquoso foi liofilizado por 48h. Todos os extratos secos foram armazenados a -18 °C até análises.

5.2.2.5 Rendimento global das extrações

O rendimento dos extratos foi calculado de acordo com a **Equação 6**, e os resultados dos rendimentos expressos como média \pm desvio padrão.

5.2.3 Caracterização dos extratos

5.2.3.1 Conteúdo fenólico total (TPC) e Capacidade antioxidante

O conteúdo fenólico total dos extratos foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia proposta por KOŞAR; DORMAN; HILTUNEN (2005). A descrição da metodologia foi apresentada em detalhes na **Seção 3.2.3.1**. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado final expresso em mg equivalente de ácido gálico por grama de extrato seco (mg GAE·g⁻¹).

A capacidade antioxidante *in vitro* dos extratos foi determinada por meio de três ensaios: eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil), redução do íon férrico (FRAP) e captura do radical ABTS⁺, que foram descritos anteriormente na **Seção 3.2.3.2**. Todas as análises foram realizadas em Multileitora de microplacas (Multileader Infinite M200 TECAN, ZH, Switzerland), e com concentração de 0,05 mg·mL⁻¹ de extrato por solvente. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado final foi expresso em μ mol equivalente de

Trolox por grama de extrato seco ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$). Os valores obtidos para a capacidade antioxidante foram correlacionados com os resultados obtidos no conteúdo de fenólicos totais (TPC) por meio do coeficiente de correlação de Pearson realizado no programa Excel.

5.2.3.2 Identificação do perfil químico dos extratos por Espectrometria de massas (UPLC-MS-QTOF)

A identificação do perfil fenólico dos extratos PLE, SWE e MAE, que obtiveram maior conteúdo fenólico total e capacidade antioxidante, foi realizada em cromatografia líquida de alta eficiência (UPLC-QTOF-MS^E). O preparo das amostras e a descrição do método utilizado estão apresentados em detalhes na Seção 3.2.3.4.

5.2.4 Análise estatística

Os resultados obtidos na caracterização do extrato foram reportados como média \pm desvio padrão, e analisados estatisticamente por análise unidirecional de variância (ANOVA). As análises foram realizadas no *software* STATISTICA (versão 12) e a diferença significativa entre as amostras foi determinada pelo teste de Tukey, admitindo nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5.2.4 Morfologia da biomassa residual da extração

Microscopia eletrônica de varredura (SEM) foi utilizada para avaliar a morfologia da superfície da mistura casca+fibra de tamarindo (**Figura 26**). A análise foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM 6390 LV, Musashino, Akishima, Japão) localizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC). Três amostras da mistura (casca+fibra) foram avaliadas: (A) matéria-prima integral; (B) biomassa residual após SWE/150 °C e (C) biomassa residual após MAE/150 °C. As biomassas residuais das extrações aquosas foram selecionadas devido ao maior rendimento e a eficiência da água em quebrar a estrutura celulósica da matriz (casca+fibra) (Seção 5.3.3). As três amostras (A, B e C) foram secas a 60 °C por 24 h, em seguida fixadas em *stubs* e revestidas com duas camadas de 16 nm de ouro, usando um metalizado (Baltec SCD 0005). A análise foi realizada sob vácuo, voltagem de 10 KV, aumento de 50 X para visualizar a matéria-prima total, e 150 X para melhorar a visualização dos grânulos.

Figura 26 - Mistura casca+fibra de tamarindo seca e moída.



Fonte: Autor, 2022.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Caracterização da matéria-prima

A caracterização inicial da mistura (casca+fibra) de tamarindo indicou, por meio da análise granulométrica, o tamanho médio de partícula de 0,47 mm. A **Tabela 15** mostra a média e o desvio padrão da composição proximal da casca de tamarindo. Os resultados encontrados para umidade, cinzas, lipídeos e proteínas foram similares ao que foi reportado por FERREIRA et al. (2019), único estudo que fez a caracterização deste resíduo até o presente momento. Os autores citaram valores de $5,96 \pm 0,01$; $3,76 \pm 0,01$; $0,54 \pm 0,01$ e $3,22 \pm 0,14 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para umidade, cinzas, lipídeos e proteínas, respectivamente. Os baixos valores obtidos para teor de lipídeos e de proteínas já eram esperados, uma vez que a maior fração destas substâncias se concentra na semente e na polpa do tamarindo (CALUWÉ; HALAMOVÁ; DAMME, 2010; MARTINS et al., 2020).

Tabela 15- Composição proximal em gramas/100 g de casca+fibra de tamarindo seca.

Umidade	7,6 ± 0,1
Cinzas	2,2 ± 0,1
Proteínas	3,8 ± 0,1
Lipídeos	0,5 ± 0,1
Fibras totais	72,1 ± 1,9
Carboidratos totais	13,8 ± 1,7

O teor de fibras totais ($72,1 \pm 1,9 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) representou mais da metade do total de substâncias encontradas na casca. As fibras são encontradas em grande proporção em leguminosas, frutas e vegetais, além de resíduos do processamento destes alimentos. De acordo com MACAGNAN et al. (2015) resíduos de frutas possuem em sua composição fibras com ação redutora nos níveis de triglicerídeos séricos e colesterol hepático. As fibras influenciam ainda na saúde intestinal, como redução do pH fecal e aumento da umidade fecal, além de atuarem no trânsito intestinal mecânico, no qual afetam a digestão dos lipídios pela absorção dos sais biliares, atuando na emulsão dos glóbulos de gordura (GARCIA-AMEZQUITA et al., 2018).

A segunda classe de compostos de maior proporção na casca de tamarindo foram os carboidratos totais ($13,8 \pm 1,7 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Em estudo realizado por FERREIRA et al. (2019) foi reportado um valor de $16,1 \pm 0,01 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Considerando que a matriz utilizada no presente estudo foi cultivada no nordeste, e aquela utilizada por FERREIRA et al. (2019) foi cultivada no centro-oeste do Brasil, fatores edafoclimáticos, como a composição do solo, por exemplo, são de elevado impacto para a diferença entre os resultados. O tipo de solo interfere diretamente no teor dos carboidratos, devido a presença de substâncias como Zn e K, minerais essenciais que atuam na formação de carboidratos e na regulação do metabolismo dos açúcares (OKELLO et al., 2017).

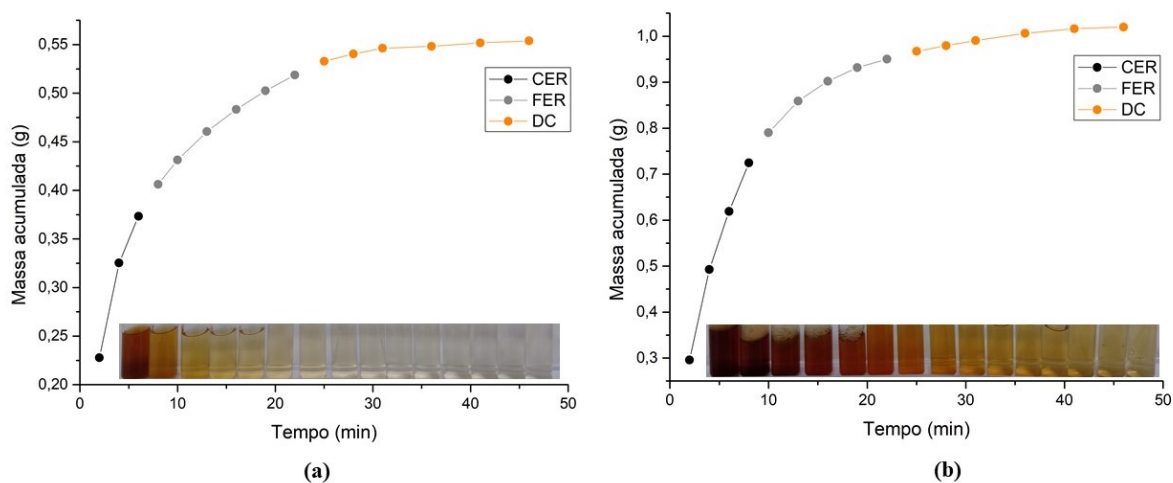
As fibras e os carboidratos, identificados como majoritários na casca de tamarindo, possuem diferentes efeitos fisiológicos no organismo humano, que variam de acordo com as características físico-químicas dessas substâncias. Na composição deste resíduo também são reportados compostos como terpenos, polifenóis e saponinas (EL-SIDDEG et al., 2006; MARTINS et al., 2020). Assim, a partir da casca de tamarindo podem ser recuperados diferentes extratos com características e composições distintas, que definem sua funcionalidade e consequente potencial de aplicação.

5.3.2 Curvas cinéticas de extração

Ensaio iniciais foram realizados nas extrações PLE, SWE e MAE para fixar o tempo de extração, a partir de curvas cinéticas de extração (CCE). Este tempo é necessário para posteriormente avaliar os efeitos das diferentes condições operacionais analisadas. Todas as CCE obtidas para a casca de tamarindo apresentaram comportamento cinético contendo três etapas de extração. Na etapa inicial (CER), correspondente aos primeiros pontos da curva, ocorre a taxa de extração constante, na qual a transferência de massa é governada pela convecção entre o soluto de fácil acesso e o meio fluido (solvente). A etapa seguinte é corresponde a taxa decrescente de extração (FER), quando ocorre o início do mecanismo de difusão, que controla a transferência de massa em conjunto com a convecção. Nesta etapa, o solvente entra nas partículas nas áreas de falhas na camada superficial de soluto, solubilizando o mesmo, com posterior difusão da mistura soluto-solvente para a superfície da partícula. Nas outras regiões da partícula onde a camada superficial de soluto ainda se encontra intacta, o mecanismo convectivo de transferência de massa ainda ocorre. Esta combinação de mecanismos faz com que nesta etapa FER a taxa de extração seja decrescente, com o progressivo esgotamento do soluto de fácil acesso. Por fim, foi observada a etapa difusional (DC) quando o mecanismo de transferência de massa é governado pela difusão do soluto do interior da partícula para o fluido (solvente), onde a transferência de massa se aproxima da taxa nula de extração (MICHIELIN et al., 2005). A escolha do tempo ideal de extração foi determinada quando o processo alcançou a etapa difusiva, garantindo a recuperação de maior percentual do soluto extraível.

A **Figura 27** apresentada as curvas cinéticas de extração (CCE) obtidas por PLE para as frações etanólica (EtOH) e hidroalcoólica (EtOH 50%), em um processo realizado a 10 MPa, 80 °C e vazão de solvente de 4 mL·min⁻¹, além da redução da coloração do extrato com o tempo. Os dados experimentais das CCE, plotados em um modelo de regressão linear por partes estão apresentados na **Tabela 16**.

Figura 27 - CCE da casca de tamarindo obtida por PLE com 10 MPa, 80 °C, tempo de até 50 minutos e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹ para os solventes EtOH (a) e EtOH 50% (b), bem como a redução da coloração do extrato com o tempo.



Fonte: Autor, 2022.

Tabela 16- Parâmetros cinéticos da CCE-PLE da casca de tamarindo realizada com os solventes EtOH e EtOH 50% a 10 MPa, 80 °C e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹.

Solvente	Parâmetro	Etapa da extração		
		CER	FER	DC
EtOH	t (min)	0-6	8-22	>22
	m (g)	0,37	0,14	0,03
	X ₀	4,67	1,82	0,44
	K	3,6 x 10 ⁻²	7,9 x 10 ⁻³	9,1 x 10 ⁻⁴
	R ²	0,96	0,98	0,87
EtOH 50%	t (min)	0-8	10-22	>22
	m (g)	0,73	0,22	0,07
	X ₀	9,05	2,82	0,87
	K	6,1 x 10 ⁻²	1,0 x 10 ⁻²	2,5 x 10 ⁻³
	R ²	0,98	0,94	0,95

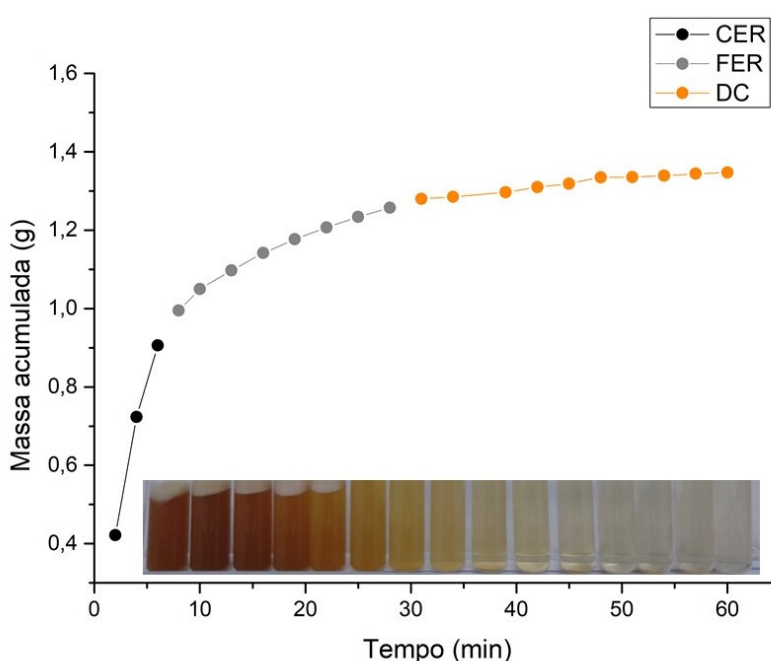
t: duração da etapa de extração (min); m: massa de extrato aproximada (g); X₀: rendimento da etapa (%); K: taxa de extração g·min⁻¹; R²: ajuste dos dados experimentais

As curvas obtidas para ambos os solventes de extração (**Figura 27**) apresentaram as três etapas do processo (CER, FER e DC) bem definidas, com variação no tempo de processo e na massa acumulada em cada etapa. A mistura hidroalcoólica apresentou maior rendimento em todas as etapas da CCE, o que pode estar relacionada a maior solubilidade dos solutos da casca de tamarindo nesse solvente. Apesar dessa diferença, para ambos os solventes, a etapa difusional foi alcançada após 22 min de extração. A partir desta etapa foi observada uma manutenção da coloração do extrato recuperado (foto dos extratos), o que sugere, juntamente com a curva cinética, a aproximação da taxa nula (DC) de extração dos compostos da matriz

sólida. De modo a garantir a máxima recuperação do soluto disponível na casca de tamarindo, o tempo de 25 min, correspondente a um rendimento de 6,65% e 12,08% para EtOH e EtOH 50%, respectivamente, foi fixado para todos os ensaios de determinação de rendimento (X_0) em PLE.

A CCE em SWE foi realizada a 10 MPa, 130 °C e vazão de solvente de 4 mL·min⁻¹. A **Figura 28** apresenta a CCE-SWE, bem como a redução da coloração do extrato com o tempo. Os dados experimentais da CCE foram ajustados por um modelo de regressão linear por partes, e os parâmetros cinéticos são apresentados na **Tabela 17**.

Figura 28 - CCE-SWE da casca de tamarindo realizada com água a 10 MPa, 130 °C e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹, bem como a redução da coloração do extrato com o tempo.



Fonte: Autor, 2022.

Tabela 17 - Parâmetros cinéticos obtidos na CCE-SWE da casca de tamarindo realizada com água a 10 MPa, 130 °C e vazão do solvente de 4 mL·min⁻¹.

Parâmetro	Etapa da extração		
	CER	FER	DC
t (min)	0-6	8-28	>28
m (g)	0,91	0,35	0,08
X_0	11,31	4,39	0,97
K	$12,1 \times 10^{-2}$	$1,3 \times 10^{-2}$	$2,0 \times 10^{-3}$
R^2	0,98	0,97	0,97

t: duração da etapa de extração (min); m: massa de extrato aproximada (g); X_0 : rendimento da etapa (%); K: taxa de extração g·min⁻¹; R^2 : ajuste dos dados experimentais

A CCE-SWE é caracterizada por três etapas de extração. A primeira etapa, de extração rápida e constante, foi observada no período entre 0-6 min e teve taxa de extração (K_{CER}) de $12,1 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$. Esta taxa de extração foi dez vezes maior do que as taxas de extração das outras etapas, sugerindo grande solubilidade dos componentes da matriz sólida na água subcrítica. Após 28 min de extração, a etapa difusional foi alcançada, correspondendo ao final da etapa decrescente de extração (FER). A partir desta etapa foi observada uma manutenção da coloração clara do extrato recuperado (foto dos extratos), o que sugere, juntamente com a curva cinética, a aproximação da taxa nula de extração dos compostos da matriz sólida (**Figura 28**). Desta forma, o tempo de 35 min de extração, correspondente a um rendimento de 16,04%, foi fixado para os ensaios de rendimento em SWE, devido ao alcance da fase difusional do processo.

A CCE do solvente EtOH 50% apresentou os melhores resultados de rendimento em PLE (alcançando 12,1% comparado com etanol). A água subcrítica (SWE) também conferiu altos rendimentos de processo (até 16,0%). Desta forma, esses solventes (EtOH 50% e água) também foram aplicados para o processo MAE. As CCE-MAE foram construídas em um processo no modo estático, com razão sólido-líquido de 1:15 (m/v) e temperaturas de 80 e 130 °C para EtOH 50% e água, respectivamente. Essas temperaturas foram as mesmas utilizadas nos processos PLE e SWE. Na **Figura 29** estão apresentadas as CCE-MAE. Os dados experimentais das curvas cinéticas foram ajustados por um modelo de regressão linear por partes, e os parâmetros cinéticos são apresentados na **Tabela 18**.

Figura 29 - CCE-MAE da casca de tamarindo realizada com os solventes EtOH 50% a 80 °C (a) e água a 130 °C (b).

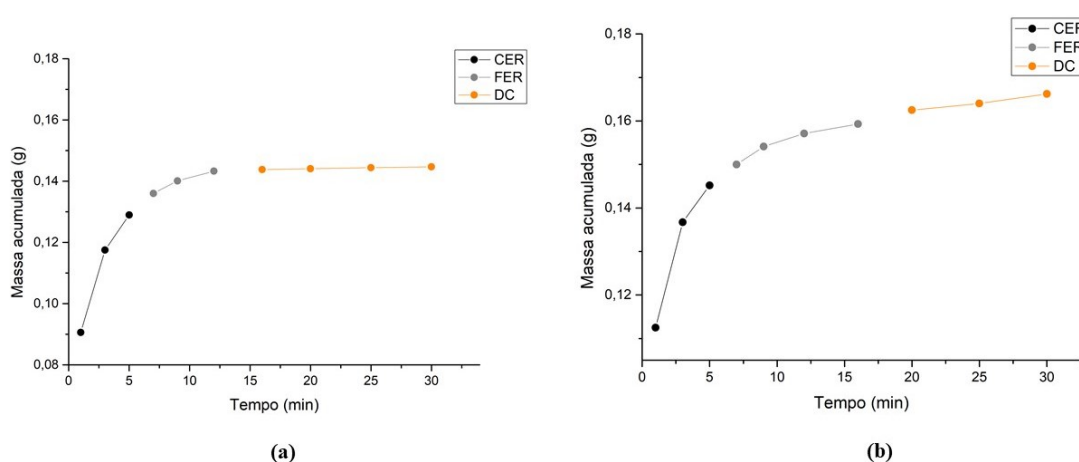


Tabela 18 - Parâmetros cinéticos obtidos na CCE-MAE da casca de tamarindo realizada com EtOH 50% a 80 °C e água a 130 °C.

Solvente / Temperatura	Parâmetro	Etapa de extração		
		CER	FER	DC
EtOH 50% / 80 °C	t	0-5	7-12	>12
	m	0,13	0,02	0,001
	X ₀	12,88	1,43	0,11
	K	9,6 x 10 ⁻³	2,1 x 10 ⁻³	8,3 x 10 ⁻⁵
	R ²	0,95	0,96	0,99
Água / 130 °C	t	0-5	7-16	>16
	m	0,14	0,02	0,007
	X ₀	14,50	1,41	0,67
	K	8,2 x 10 ⁻³	9,8 x 10 ⁻⁴	3,7 x 10 ⁻⁴
	R ²	0,93	0,92	0,98

t: duração da etapa de extração (min); m: massa de extrato aproximada (g); X₀: rendimento da etapa (%); K: taxa de extração g.min⁻¹; R²: ajuste dos dados experimentais

As CCE-MAE (**Figura 29**), embora tenham apresentado comportamento cinético semelhante ao que foi observado nos outros métodos de extração (PLE e SWE), evidenciaram menor tempo de processo (até 30 min). Em MAE, a energia de micro-ondas é facilmente absorvida por solventes aquosos e hidroalcoólicos, o que facilita a rápida difusão do soluto para fora do sólido (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). Dessa forma, o processo atinge a etapa difusional mais rápido, como foi observado nas CCE-MAE da casca de tamarindo. Ao final da etapa FER o rendimento já havia sido bastante reduzido, assim, os tempos de 12 e 16 min, correspondente a rendimentos de 14,30% e 15,90% para os solventes EtOH 50% e água, respectivamente, foram fixados para os ensaios de rendimento em MAE.

5.3.3 Avaliação do rendimento global (X₀) de extração

A **Tabela 19** apresenta os valores de rendimento global (X₀) obtidos nas extrações PLE, SWE, MAE e SOX para a casca de tamarindo. Considerando as diferentes condições de extração, os valores de rendimento variaram de 3,7 a 22,8%. Essa variação se deve as diferenças nos aspectos fenomenológicos de cada método, que refletem na seletividade dos solutos presentes na matriz vegetal.

Tabela 19- Rendimento global dos extratos da casca de tamarindo obtidos nas extrações PLE SWE, MAE e SOX.

Método	Solvente	Temperatura	X ₀ (%) ⁽¹⁾
PLE	EtOH	60 °C	3,7 ± 0,3 ^l
		80 °C	5,8 ± 0,2 ^k
		100 °C	7,2 ± 0,1 ^j
	50% EtOH/Água	60 °C	12,0 ± 0,2 ^{fg}
		80 °C	13,3 ± 0,1 ^{de}
		100 °C	15,2 ± 0,1 ^c
SWE	Água	110 °C	13,8 ± 0,1 ^d
		130 °C	16,9 ± 0,4 ^b
		150 °C	22,8 ± 0,3 ^a
MAE	50% EtOH/Água	60 °C	9,6 ± 0,1 ^h
		80 °C	11,6 ± 0,2 ^g
		100 °C	12,8 ± 0,3 ^{ef}
	Água	110 °C	12,2 ± 0,2 ^{fg}
		130 °C	13,7 ± 0,1 ^d
		150 °C	15,5 ± 0,6 ^c
SOX	EtOH		8,3 ± 0,1 ⁱ

⁽¹⁾ média ± desvio padrão do rendimento; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). PLE: Extração com Líquido Pressurizado; SWE: Extração com Água Subcrítica; MAE: Extração assistida por micro-ondas; SOX: Soxhlet; EtOH: etanol.

Os maiores rendimentos globais foram obtidos em SWE com água como solvente (16,9% e 22,8% a 130 e 150 °C, respectivamente), mostrando relação direta com o aumento da temperatura. A água é um solvente altamente polar, mas quando em sistemas pressurizados (10MPa) e temperaturas entre 100-200 °C pode reduzir sua constante dielétrica de $\epsilon=80$ (25 °C/0,1 MPa) para $\epsilon=55-35$, o que altera sua polarizabilidade, melhorando a solubilização de uma ampla gama de compostos de polaridade intermediária-baixa (HERRERO; GALLEGO, 2019). Além disso, a água subcrítica exibe propriedades hidrolítica, devido ao aumento da sua constante de ionização, o que pode resultar na quebra de componentes ligados, como taninos, por exemplo, que estão presentes na casca de tamarindo (CALUWÉ; HALAMOVÁ; DAMME, 2010). A correlação do rendimento com a presença de taninos em extratos de SWE também foi reportada por ERŞAN et al. (2018) em estudo de extração de compostos fenólicos da casca de pistache (*Pistacia vera* L.). Os autores reportaram que a variação da temperatura entre 110-150 °C em um processo pressurizado (6,9 MPa) aumentou o rendimento da extração de 59,1 para 70,9% com a elevação da temperatura, atribuindo o maior rendimento obtido em 150 °C a presença de galotanino no extrato.

O elevado rendimento em SWE também pode estar associado a formação de compostos derivados da reação de *Maillard*, visto que a casca de tamarindo possui em sua composição elevado teor de carboidratos totais (reportado na seção 4.3.1), que podem reagir

com aminoácidos da própria matéria prima levando a formação de produtos de caramelização com capacidade antioxidante (PLAZA et al., 2010a). RODRIGUES et al. (2019) em avaliação da eficiência de SWE para a recuperação de compostos fenólicos da semente de mamão reportaram um progresso nas reações de *Maillard* com o aumento da temperatura (entre 70 - 150 °C). Os autores relataram que a 150 °C foi obtido o rendimento mais alto, e que nessa condição a capacidade antioxidante do extrato teve correlação positiva com os produtos da reação de *Maillard*.

O aumento da temperatura, assim como em SWE, foi relevante para o aumento do rendimento em PLE. Os melhores rendimentos de PLE foram obtidos com o solvente hidroalcoólico (EtOH 50%) (15,2%) na máxima temperatura (100 °C). Sabe-se que a casca de tamarindo é formada por compostos como polifenóis e terpenos que, de acordo com sua estrutura química, podem ter maior solubilidade em solventes hidroalcoólicos do que em etanol puro (BIONDO et al., 2014; MARTINS et al., 2020). As condições de elevada pressão e temperatura do PLE, aliadas a maior solubilidade dos solutos da casca de tamarindo em EtOH 50%, contribuem para a maior transferência de massa e conseqüentemente maior rendimento de extração. Na literatura, outros estudos de extração de compostos fenólicos em PLE também relataram maior rendimento em extratos hidroalcoólicos. SANTOS et al. (2019), por exemplo, em extração de compostos fenólicos da casca de feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) utilizando PLE com diferentes temperaturas (40, 55, 80 °C), relataram que o máximo X_0 foi obtido com solvente hidroalcoólico (EtOH 50%), quando comparado aos outros solventes analisados (etanol, água). Os autores atribuíram esse resultado a ação sinérgica entre os solventes, uma vez que um solvente pode melhorar a solubilidade do soluto, enquanto o outro aumentaria a dessorção do soluto.

A extração convencional em SOX com etanol apresentou rendimento ($8,3 \pm 0,1\%$) estatisticamente ($p < 0,05$) mais baixo do que o resultado obtido em todas as condições analisadas, mas superior ao rendimento obtido em PLE-EtOH (3,7 - 7,2%), condição de menor rendimento desse estudo. Comparando o resultado de SOX-EtOH e PLE-EtOH, fatores operacionais de SOX como longo tempo (6h) e reuso do solvente podem estar relacionados ao maior rendimento, devido ao esgotamento a que a matriz é levada neste processo (MAZZUTTI et al., 2017b).

Diante do melhor desempenho do EtOH 50% em PLE, bem como da água em SWE, esses solventes e as mesmas condições de temperatura utilizadas nesses métodos, foram analisadas em MAE, para avaliar a eficácia dos solventes aliada ao aquecimento de micro-ondas. Assim, foi observado que o rendimento das extrações em MAE variou entre 9,6 e 15,5%,

sendo o melhor resultado obtido a 150 °C. Neste processo, em ambos os solventes, o aumento da temperatura influenciou positivamente no rendimento, devido a redução da viscosidade do solvente e da tensão superficial, que favorecem a solubilização do soluto para a fase fluida (solvente) (RODRIGUES et al., 2020). Entre os solventes analisados em MAE, a água pura apresentou maior eficiência, o que pode estar relacionado a sua maior capacidade de absorver as micro-ondas e a rápida reorientação dos seus dipolos no campo elétrico, permitindo a melhor absorção da energia eletromagnética e a dissipação na forma de calor, consequentemente, melhorando o rendimento de extração (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

O aquecimento por micro-ondas associado ao sistema pressurizado (2,4 MPa) influenciaram para um rápido aquecimento do solvente, fazendo com que o processo em MAE fosse mais curto, quando comparado aos outros métodos de extração (PLE e SWE), o que é relevante do ponto de vista industrial, devido a economia de tempo (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015). Esta relação tempo *versus* eficiência do processo pode ser claramente observada ao avaliar os rendimentos obtidos em MAE e PLE com o EtOH 50%, por exemplo. Em 12 min de processo em MAE, utilizando apenas 15 mL de solvente foi obtido rendimento de 9,6-12,8%, resultado semelhante ao que foi relatado para PLE em 25 min nas temperaturas mais baixas (12,0% e 13,3 a 60 e 80 °C, respectivamente), utilizando 4 vezes mais o volume de solvente (100 mL). Esta diferença no consumo de solvente nos métodos pode ser atribuída ao modo estático utilizado em MAE, no qual o equilíbrio entre os solutos ainda ligados à matriz e aqueles já solubilizados no solvente pode ser alcançado com um menor volume de solvente (HERRERO et al., 2013). Apesar de algumas diferenças operacionais, ambos os métodos de extração podem fornecer extratos de elevado rendimento, quando comparado a processos convencionais, como o Soxhlet-EtOH.

5.3.4 Avaliação do conteúdo fenólico total (TPC) dos extratos

O conteúdo fenólico total (TPC) dos extratos da casca de tamarindo foi avaliado de acordo com curva padrão de ácido gálico (**Apêndice C-Figura C.I** com R^2 de 0,996), e expresso em mg equivalente de ácido gálico (GAE) por g de extrato. A **Tabela 20** apresenta os resultados de TPC obtidos nas diferentes condições de extração analisadas.

Tabela 20- Conteúdo de fenólicos totais (TPC) dos extratos da casca de tamarindo obtidos em extrações a alta pressão (PLE, SWE e MAE) e convencional (SOX).

Método de extração	Solvente	Temperatura (°C)	TPC (mg GAE·g ⁻¹) ⁽¹⁾
PLE	Etanol	60	92,4 ± 0,5 ^l
		80	90,9 ± 0,3 ^l
		100	102,3 ± 0,9 ^k
	Etanol 50%	60	160,8 ± 0,6 ^e
		80	194,7 ± 0,5 ^b
		100	201,6 ± 0,8 ^a
SWE	Água	110	142,4 ± 1,1 ^g
		130	147,6 ± 0,5 ^f
		150	149,4 ± 0,3 ^f
MAE	Etanol 50%	60	175,2 ± 1,1 ^d
		80	174,8 ± 1,2 ^d
		100	191,1 ± 0,6 ^c
	Água	110	90,4 ± 0,2 ^l
		130	121,2 ± 0,3 ⁱ
		150	123,4 ± 0,6 ^h
SOX	EtOH		115,1 ± 1,0 ^j

⁽¹⁾ média ± desvio padrão do conteúdo de fenólicos totais (TPC); Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). PLE: Extração Líquido Pressurizado; SWE: Extração Água Subcrítica; MAE: Extração assistida por micro-ondas; SOX: Soxhlet.

O TPC dos extratos variou entre 90,4 a 201,6 mg GAE·g⁻¹. A modificação da temperatura foi o parâmetro do processo de maior influência para a variação dos resultados, visto que independente do solvente, o aumento da temperatura foi diretamente proporcional ao aumento do TPC. Esta correlação positiva se deve, em especial, a ação da temperatura no sistema, que favorece a ruptura da parede celular das partículas e o aumento da solubilidade dos polifenóis (SARKAR; GHOSH, 2016).

Entre os solventes analisados, o uso de EtOH 50% forneceu os melhores resultados de TPC, em ambos os métodos de extração (PLE e MAE), especialmente no extrato obtido em PLE a 100 °C, que apresentou TPC estatisticamente mais alto (201,6 mg GAE·g⁻¹). Este resultado corrobora com os relatos da literatura de que a casca de tamarindo é composta por polifenóis, que assim como ácidos hidroxicinâmicos são compostos mais hidrofílicos e de maior solubilização em solução hidroalcoólica do que em etanol puro (SANTOS et al., 2019b; MARTINS et al., 2020). Em relação aos métodos de extração, é relevante destacar que o uso de alta pressão em PLE (10 MPa), quando comparado a pressão de MAE (2,4 MPa), pode ter contribuído para o rompimento da parede celular, bem como das ligações hidrofóbicas na membrana, o que modifica a distribuição e agregação de compostos fenólicos, facilitando o fluxo de solvente no sistema de PLE (CASQUETE et al., 2015).

O segundo solvente de maior eficiência na extração de fenólicos totais da casca de tamarindo foi a água pura. O uso da água em SWE forneceu maior TPC entre 142,4 - 149,4 mg GAE·g⁻¹. Este resultado pode ser correlacionado ao estado subcrítico da água, no qual suas ligações de hidrogênio são enfraquecidas, reduzindo sua constante dielétrica, e conseqüentemente, intensificando suas propriedades de dissolução por compostos fenólicos de uma ampla faixa de polaridade (SINGH; SALDAÑA, 2011; BURSAĆ KOVAČEVIĆ et al., 2018). Outros fatores relevantes para os melhores resultados em SWE, quando comparado ao extrato de MAE-água nas mesmas condições, estão relacionados com a forma de aquecimento da amostra, ao modo de execução do processo (estático/dinâmico), e conseqüentemente ao maior tempo de extração (35 min) (CHEMAT et al., 2017; BUBALO et al., 2018).

Em relação a extração convencional foi observado que o extrato de SOX com EtOH apresentou valores de TPC estatisticamente mais baixos do que os métodos a alta pressão, exceto para o extrato de PLE-EtOH, bem como também foi observado anteriormente na avaliação do rendimento global (X₀). Sabe-se que em SOX o reuso do solvente por um longo período de extração pode fornecer um extrato multicomponente formado por solutos de interesse (fenólicos), bem como interferentes co-extraídos, que podem afetar a análise de compostos fenólicos totais (TPC). Enquanto que a extração em PLE-EtOH, apesar de apresentar resultados inferiores aos de SOX, apresenta vantagem quando é considerada a redução no tempo de extração.

Os resultados apresentados até o momento demonstram que compostos fenólicos da casca de tamarindo são eficientemente obtidos com EtOH 50% em sistema pressurizado a 100 °C. No entanto, tendo em vista a obtenção de uma fração polar com atividade funcional, a avaliação da capacidade antioxidante e da composição fenólica desse extrato poderá investigar melhor eficiência dessa condição.

5.3.5 Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos

A **Tabela 21** mostra a capacidade antioxidante dos extratos da casca de tamarindo. Os resultados foram correlacionados com curva padrão de Trolox (R² de 0,9924, 0,9982 e 0,993, para DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente-**Apêndice C**), e expressos em μmol equivalente de Trolox por g de extrato seco (μmol TEAC·g⁻¹).

Dadas as diferenças químicas de cada grupo de antioxidantes presentes em uma matriz vegetal, foi observado um comportamento distinto na capacidade antioxidante dos extratos, de acordo com os radicais avaliados (DPPH, ABTS e FRAP). A partir do ensaio FRAP, por exemplo, foi observada a menor capacidade antioxidante (301,11 - 1169,17 μmol TEAC·g⁻¹),

enquanto que a partir dos ensaios de DPPH (404,7 - 943,1 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$) e ABTS (606,2 - 1918,8 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$) foi observada maior capacidade antioxidante dos extratos. Este resultado sugere que o mecanismo dominante de reação antioxidante dos compostos da casca de tamarindo pode ser proveniente de uma reação mista, com transferência de elétrons e átomos de hidrogênio (APAK et al., 2016a).

Tabela 21 - Capacidade antioxidante dos extratos da casca de tamarindo obtidos nas extrações a alta pressão (SFE, PLE e SWE) e convencional (SOX).

Método de extração	Solvente	Temperatura (°C)	DPPH ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ extrato seco) ⁽¹⁾	ABTS ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ extrato seco) ⁽¹⁾	FRAP ($\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ extrato seco) ⁽¹⁾
PLE	EtOH	60	404,7 ± 11,0 ^k	606,2 ± 12,7 ^j	301,1 ± 15,9 ⁱ
		80	415,3 ± 15,0 ^{jk}	747,8 ± 11,8 ⁱ	309,4 ± 14,8 ⁱ
		100	436,5 ± 6,9 ^{ij}	856,3 ± 18,0 ^h	388,9 ± 19,2 ^h
	EtOH 50%	60	668,1 ± 4,6 ^e	1274,3 ± 24,2 ^d	313,3 ± 3,8 ⁱ
		80	637,1 ± 3,3 ^f	1314,8 ± 34,9 ^d	581,1 ± 13,0 ^g
		100	724,9 ± 7,2 ^d	1429,5 ± 16,0 ^c	822,8 ± 10,4 ^d
SWE	Água	110	544,6 ± 1,3 ^g	1079,9 ± 8,6 ^f	646,7 ± 4,4 ^f
		130	552,3 ± 8,3 ^g	1041,0 ± 14,9 ^f	748,9 ± 15,1 ^e
		150	446,2 ± 7,3 ⁱ	918,4 ± 14,6 ^g	653,3 ± 13,2 ^f
MAE	EtOH 50%	60	772,9 ± 5,5 ^c	1312,1 ± 7,7 ^d	655,5 ± 20,6 ^f
		80	850,1 ± 3,9 ^b	1540,6 ± 9,5 ^b	891,7 ± 16,0 ^c
		100	943,1 ± 4,0 ^a	1918,8 ± 11,4 ^a	1169,2 ± 18,6 ^a
	Água	110	662,6 ± 5,9 ^e	1431,1 ± 23,9 ^c	961,1 ± 28,8 ^b
		130	565,1 ± 5,3 ^g	1382,7 ± 26,1 ^c	998,6 ± 21,0 ^b
		150	492,7 ± 7,5 ^h	1198,3 ± 24,1 ^e	846,7 ± 16,9 ^{cd}
SOX	EtOH		482,5 ± 5,2 ^h	1045,4 ± 24,8 ^f	661,7 ± 26,6 ^f

⁽¹⁾ média ± desvio padrão da capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP); Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). PLE: Extração Líquido Pressurizado; SWE: Extração Água Subcrítica; MAE: Extração assistida por micro-ondas; SOX: Soxhlet.

O extrato obtido em MAE com EtOH 50% e 100 °C apresentou capacidade antioxidante estatisticamente mais alta ($p < 0,05$), com valores de 943,13 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ para DPPH, 1918,8 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ para ABTS e de 1169,2 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ para FRAP. Os melhores resultados com a solução hidroalcoólica já eram esperados, devido sua maior afinidade pelos compostos presentes na casca, como foi discutido nas seções anteriores. O uso de EtOH 50% a 100 °C em PLE também forneceu extratos com valores elevados de TPC (724,9 – 1429,5 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$), apesar de serem inferiores aos que foram obtidos em MAE. A solução hidroalcoólica associada ao menor tempo de processo e ao mecanismo de aquecimento por micro-ondas, do interior à extremidade da célula, podem ter favorecido a preservação dos

compostos antioxidantes termolábeis e melhorado a eficiência de extração dos dessas substâncias (FLÓREZ; CONDE; DOMÍNGUEZ, 2015; CHEMAT et al., 2019). Em estudo anterior, GANESAPILLAI; VENUGOPAL; SIMHA (2017) relataram a eficiência de MAE em extrair flavonoides da casca de tamarindo, em especial a (-)-epicatequina. Os autores destacaram que o solvente etanol teve melhor eficiência de extração em relação ao acetato de etila, e na condição de 180 W de potência a matriz de menor diâmetro (0,2 mm) apresentou elevado teor de (-)-epicatequina (62,3 mg·100g⁻¹ amostra seca), quando comparada ao método de ultrassom (avaliado como convencional) e as outras condições analisadas em MAE (100 W / 0,4 mm).

O aumento da temperatura também influenciou significativamente ($p < 0,05$) a capacidade antioxidante dos extratos obtidos com água pura. Em SWE e MAE os extratos aquosos obtidos a 130 °C (temperatura intermediária) apresentaram melhor capacidade antioxidante, independentemente do tempo de processo e dos fenômenos envolvidos em cada método. Assim, foi observado que na máxima temperatura (150 °C) houve uma redução na capacidade antioxidante dos extratos, o que pode estar relacionado a degradação parcial de compostos antioxidantes termolábeis (PLAZA; LUISA, 2019). Outros estudos da literatura também reportaram a degradação dos compostos antioxidantes em extração com água subcrítica. Relatos referentes a casca do kiwi, por exemplo, que apresenta composição química semelhante a matriz do presente estudo, demonstraram degradação dos compostos e redução da capacidade antioxidante a partir da aplicação de água pura até 160 °C (GUTHRIE et al., 2020) ou água acidificada até 200 °C (KHEIRKHAH; BAROUTIAN; QUEK, 2019).

No entanto, é importante destacar que devido a modificação na polarizabilidade da água no estado subcrítico, o extrato da casca de tamarindo pode conter duas frações, uma formada por compostos de baixo peso molecular (fenóis, pequenos peptídeos e produtos da reação de *Maillard*) e outra com compostos de alto peso molecular (polissacarídeos), que naturalmente podem apresentar maior ou menor capacidade antioxidante, respectivamente (PLAZA et al., 2010a). Diante da redução da capacidade antioxidante dos extratos aquosos com o aumento da temperatura em SWE e MAE, supõe-se que os extratos obtidos a temperatura ≤ 130 °C e a ≥ 150 °C podem apresentar porcentagens distintas de cada uma dessas frações. Análises adicionais para a avaliação dos produtos da reação de *Maillard*, teor de carboidratos totais e proteínas nos extratos podem auxiliar na detecção das frações de compostos e sua correlação com a capacidade antioxidante (PLAZA et al., 2010b; RODRIGUES et al., 2019).

Em comparação a extração convencional de SOX, os extratos da casca de tamarindo obtidos nos métodos a alta pressão, em especial MAE, apresentaram capacidade antioxidante

estatisticamente ($p < 0,05$) superior ao que foi reportado para o extrato de SOX-EtOH ($482,5 - 1045,4 \mu\text{mol TEAC} \cdot \text{g}^{-1}$). Estes resultados demonstram a relevância dos métodos a alta pressão no ciclo de biorrefino da casca de tamarindo para fornecer extratos com funcionalidade antioxidante (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012).

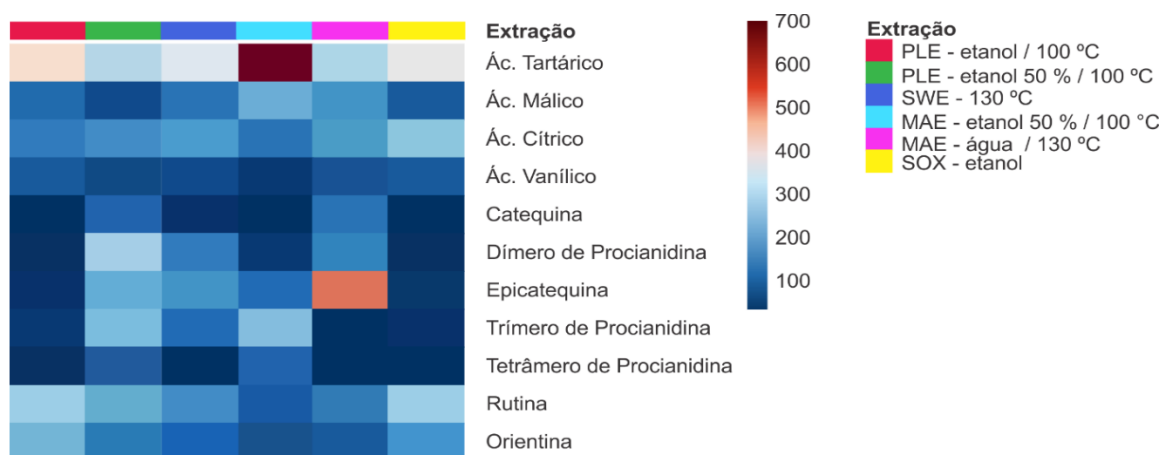
Em geral, a capacidade antioxidante de extratos vegetais pode estar correlacionada ao conteúdo de fenólico total (TPC) e a variada concentração de polifenóis extraíveis (EPP). No entanto, de acordo com CRAFT et al. (2012), em alguns casos a correlação entre TPC e a capacidade antioxidante é muito baixa. Este fato foi observado no presente estudo, no qual, a partir da correlação de Pearson, esta relação apresentou valores de 0,73 (TPC-DPPH), 0,64 (TPC-ABTS) e 0,33 (TPC-FRAP). Esses dados sugerem que na casca de tamarindo existem em proporção moderada de compostos fenólicos totais que atuam como antioxidante a partir de mecanismo misto de reação (HAT/SET) com os radicais livres. No entanto, devido aos bons resultados obtidos nos ensaios TEAC, a casca de tamarindo pode ser composta por outros compostos antioxidantes específicos, como flavonoides e fenólicos poliméricos (proantocianidinas e taninos hidrolisados), que normalmente não são quantificados adequadamente por meio de ensaio fenol total (TPC). Assim, para correlacionar a atividade antioxidante dos extratos da casca de tamarindo com essas substâncias em particular, ensaios específicos devem ser realizados para cada classe de compostos.

5.3.6 Perfil químico dos extratos por UPLC-QTOF-MS^E

Os extratos da casca de tamarindo obtidos nas condições de (a) PLE-etanol / 100 °C, (b) PLE-etanol 50% / 100 °C, (c) SWE / 130 °C, (d) MAE-etanol 50% / 100 °C, (e) MAE-água / 130 °C e (f) SOX-etanol foram selecionados pelas máximas respostas em TPC e capacidade antioxidante. Uma análise exploratória do perfil fenólico desses extratos foi realizada em cromatografia líquida de alta resolução e espectrometria de massa de alta resolução (UPLC-QTOF-MS^E).

A **Tabela 22** resume a lista de compostos tentativamente identificados, bem como o tempo de retenção (Rt), massas detectadas no modo de ionização negativa $[M - H]^-$, fragmentos dos íons MS/MS, fórmula molecular e referências de caracterização. As informações geradas a partir dos cromatogramas (**Apêndice D-Figura D.II**) permitiram a anotação de onze metabólitos, entre os quais estão alguns ácidos orgânicos, procianidinas e outros compostos fenólicos. A **Figura 30** apresenta um gráfico de calor plotado a partir da intensidade dos picos cromatográficos identificados nos extratos da casca de tamarindo.

Figura 30 - Mapa de calor baseado na intensidade dos picos cromatográficos obtidos em UPLC-QTOF-MS em modo de ionização negativa ([MH]⁻) referente aos metabólitos anotados nos extratos de casca de tamarindo.



Fonte: Autor, 2022.

No grupo dos ácidos orgânicos, o ácido tartárico, correspondente ao pico **1**, foi o metabólito que apresentou maior intensidade, em particular no extrato obtido em MAE-etanol 50% / 100 °C (**d**). A presença de ácido tartárico na casca foi relatada anteriormente por FERREIRA et al. (2019), em estudo de caracterização físico-química de diferentes partes do tamarindo. Os autores destacaram um teor de 6,53 g de ácido tartárico por 100 g de casca seca. Este relato corrobora com os dados de identificação do presente estudo, no qual o ácido tartárico foi observado com intensidade moderada-baixa em todos os extratos analisados. A elevada intensidade desse composto no extrato hidroalcoólico de MAE pode estar relacionada a maior capacidade antioxidante observada anteriormente nesse extrato, visto que os ácidos orgânicos presentes em tamarindo estão relacionados a capacidade antioxidante, a acidez característica deste fruto (CALUWÉ; HALAMOVÁ; DAMME, 2010). Devido as diferentes funcionalidades benéficas à saúde, os ácidos orgânicos podem ser utilizados em substituição aos ácidos minerais (ácidos clorídrico e sulfúrico, por exemplo) em processos de extração de outras substâncias, como polissacarídeos e proteínas, por exemplo, e assim aplicados na formulação de novos produtos na indústria de alimentos e cosméticos (MAKRIS, 2018; MAGALHÃES JÚNIOR et al., 2021).

Tabela 22 - Compostos tentativamente identificados na fração fenólica de extratos de casca de tamarindo usando UPLC- QTOF-MS/MS.

Pico	Rt (min)	ESI ⁻			Erro (ppm)	Fórmula molecular	Anotação do Pico*	Referência
		MS calculado	MS [M-H] ⁻	MS/MS				
1	1,74	149,0086	149,0083	72,9942; 87,0079	-2,0	C ₄ H ₆ O ₆	Ácido tartárico	(SANG et al., 2019)
2	1,92	133,0137	133,0133	115,0056	-3,0	C ₄ H ₆ O ₅	Ácido málico	(SOBEH et al., 2018)
3	1,93	191,0192	191,0188	111,0078; 173,0082	-2,1	C ₆ H ₈ O ₇	Ácido cítrico	(PRAKASH; BASKARAN; KUDACHIKAR, 2019)
4	3,91	167,0344	167,0342	123,0442; 152,0075	-1,2	C ₈ H ₇ O ₄	Ácido vanílico	(LI et al., 2020)
5	5,13	289,0712	289,0713	109,0305; 125,0235; 245,0591	0,3	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Catequina	(PRAKASH; BASKARAN; KUDACHIKAR, 2019)
6	5,35	577,1346	577,1330	289,0699; 407,0765; 425,0901; 451,1141	-2,8	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	Dímero de procianidina Tipo B	(DA SILVA et al., 2017)
7	5,75	289,0712	289,0703	125,0231; 221,0741; 245,0588	-3,1	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Epicatequina	(PRAKASH; BASKARAN; KUDACHIKAR, 2019)
8	5,81	865,1980	865,1940	713,1499; 577,1399; 575,1663; 289,0710	-4,0	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	Trímero de procianidina Tipo B	(DA SILVA et al., 2017)
9	5,92	1153,2614	1153,2659	289,0671; 407,0789; 425,0869; 577,1401; 865,2115	-0,7	C ₆₀ H ₅₀ O ₂₄	Tetrâmero de procianidina Tipo B	(DA SILVA et al., 2017)
10	6,65	609,1456	609,1459	151,0353; 179,0516; 271,0182; 343,0855; 300,0247; 301,0312	0,5	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Quercetina-3- <i>O</i> -rutinosídeo (rutina)	(ABU-REIDAH et al., 2015; GUEDES et al., 2020)
11	7,01	447,0927	447,0924	285,0374	-0,7	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Orientina	(FILHO et al., 2020)

* Metabólitos identificados em todas os extratos: PLE-etanol /100 °C (a); PLE-etanol 50% / 100 °C (b); SWE /130°C (c); MAE-etanol 50% / 100 °C (d); MAE-água /130 °C (e) e SOX-etanol (f); Rt: tempo de retenção.

O grupo dos metabólitos fenólicos foi dominante nos extratos da casca de tamarindo. Dentro deste grupo, flavonoides e um ácido fenólico foram identificados. O ácido vanílico, correspondente ao pico **4**, foi identificado em todos os extratos com baixa intensidade. Catequina e epicatequina, correspondentes aos picos **5** e **7**, respectivamente, foram identificados em maior intensidade no extrato de MAE-água / 130 °C (**e**). GANESAPILLAI; VENUGOPAL; SIMHA (2017) relataram anteriormente a eficiência de MAE em extrair flavonoides, em especial a (-)-epicatequina, utilizando etanol puro como solvente. Os autores relataram ainda que a atividade antioxidante dos extratos foi majoritariamente atribuída a este composto. Assim como este relato, no presente estudo, a melhor capacidade antioxidante ($565,13 - 1382,69 \mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$) do extrato aquoso de MAE pode estar relacionada em especial a presença de epicatequina, visto que polifenóis, comumente encontrados em frutas e vegetais, possuem elevada atividade antioxidante, antimalárica, antiviral e anticarcinogênica (REKSHMYD'DHARAN; ROY, 2013).

Uma série de procianidinas foram identificadas como dímero, trímero e tetrâmero de procianidina do Tipo B, correspondentes aos picos **6**, **8** e **9**, respectivamente. Esses metabólitos foram detectados com maior intensidade no extrato de PLE-etanol 50% / 100 °C (**b**). Como as proantocianidinas estão armazenadas em vacúolos de células vegetais ou associadas a parede celular e a outros componentes celulares, como proteínas e fibras, as condições de elevada temperatura e pressão do PLE podem ter auxiliado na quebra dessas ligações (DZAH et al., 2020). É importante destacar que nos extratos de baixa-nula detecção desse metabólito, sua composição ainda pode ser elevada na biomassa residual de extração, o que incentiva o uso deste resíduo como matéria-prima para outros processos ou produtos, como fibra alimentar antioxidante, por exemplo (DZAH et al., 2020).

Os flavonoides, rutina e orientina, correspondentes aos picos **10** e **11**, respectivamente, apresentaram intensidade intermediária em todos os extratos, exceto os extratos etanólicos obtidos em PLE (**a**) e SOX (**f**). Em processos de alta temperatura, rutina e orientina tem uma solubilidade maior em etanol do que em solventes aquosos, o que também foi relatado anteriormente para os extratos de semente de tamarindo (apresentados no Capítulo 3). A literatura indica que esses flavonoides, extraídos principalmente de fontes naturais, exercem efeito antioxidante, antiinflamatório e antimicrobiano em produtos farmacêuticos e alimentícios (GULLÓN et al., 2017).

De acordo com MARTINS et al. (2020) poucos estudos de extração e identificação de metabólitos ativos presentes na casca de tamarindo foram realizados até o momento. Este é o primeiro relato de ácido cítrico, ácido vanílico, rutina e orientina na casca de tamarindo, que

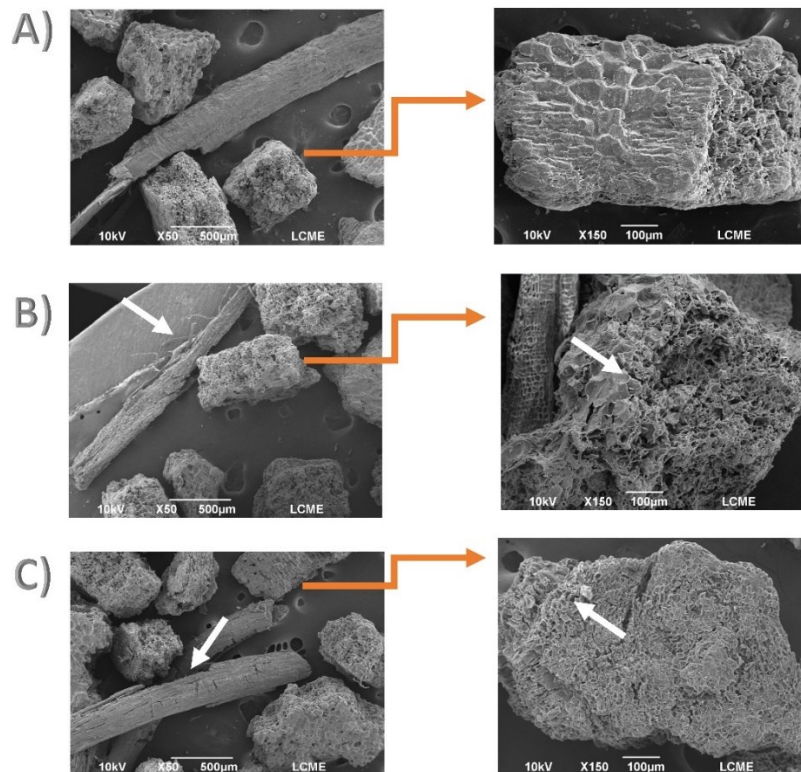
antes foram identificados apenas em extratos da semente. Outros estudos de extração com cascas de frutas utilizando métodos a alta pressão relataram composição similar ao que foi encontrado no presente estudo. RUDKE et al. (2019), por exemplo, destacaram a identificação de ácidos fenólicos e flavonoides em extrato hidroalcoólico da casca de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) obtido em PLE. O uso de SWE foi reportado na literatura como um método promissor para a extração de catequina e epicatequina do chá verde (ETOH et al., 2010), derivados de ácido hidroxicinâmico como ácido felúrico e caféico presentes na casca de batata (SINGH; SALDAÑA, 2011) e quercetina e kaempferol da casca de cebola (MUNIR et al., 2018). Diante da eficiência dos métodos a alta pressão apresentada neste e em outros relatos da literatura, bem como a presença de metabólitos ativos na casca de tamarindo, as condições de extração aplicadas a este resíduo são relevantes para o ciclo de biorrefino de tamarindo.

5.3.7 Morfologia da biomassa residual da extração

A casca de tamarindo é composta de 72,8 % de celulose, o que a torna atrativa matéria-prima para a produção de nanofibra de celulose. A água pressurizada, em processos como SWE e MAE, pode provocar reações hidrolíticas em matrizes lignocelulósicas, rompendo as ligações covalentes entre as cadeias de lignina e os constituintes da celulose e da hemicelulose, maximizando a exposição das regiões amorfas do material vegetal, atuando como pré-tratamento na produção de nanofibra de celulose (MOHAN; BANERJEE; GOUD, 2015; TEO; WAHAB, 2020). Dessa forma, as biomassas residuais obtidas após as extrações aquosas em SWE-150 °C e MAE-150 °C foram selecionadas para avaliação da morfologia estrutural, por meio de análise de SEM.

A **Figura 31** apresenta as imagens de SEM para a matriz (casca+fibra) de tamarindo integral (A) e residual das extrações (B e C). As biomassas após as extrações (SWE e MAE) apresentaram estrutura diferente da matéria prima integral (**Figura 31 A**). No resíduo obtido após MAE-150°C (**Figura 31 C**), a fibra, em forma de bastonete, apresentou pequenas ranhuras na estrutura, e a casca, em forma de grânulo, apresentou formação de microcavidades. Essas alterações estruturais estão especialmente relacionadas a alta capacidade da água em absorver as micro-ondas, permitindo a melhor absorção da energia eletromagnética e a dissipação na forma de calor, o que ocasiona o rompimento da matriz e melhora a eficiência da extração (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

Figura 31 - Imagens de SEM da mistura (casca+fibra) de tamarindo com ampliação de 50X: (A) matéria-prima integral; (B) biomassa após SWE-150 °C; (C) biomassa após MAE-150 °C, bem como imagens dos grânulos da casca com ampliação de 150X, para cada amostra analisada.



Fonte: Autor, 2022.

A biomassa residual após SWE-150 °C (**Figura 31 B**) apresentou diferença em relação à matéria-prima (antes da extração) (**Figura 31 A**), e ao resíduo de MAE-150 °C (**Figura 31 C**). O maior tempo de processo em SWE (40 min / 10 MPa) comparado à MAE (12 min / 2,4 MPa), deve ter contribuído para a maior modificação estrutural do sólido. Como destacado anteriormente, a água pressurizada pode ocasionar reações hidrolíticas na matriz, removendo hemicelulose e parte da lignina, que atuam como substâncias conectoras entre as fibras (XU et al., 2019), promovendo assim, alta ruptura da fibra e a formação de microcavidades nos grânulos de casca (**Figura 31 B**). Este fenômeno permite o acesso do solvente a substâncias internas como compostos fenólicos hidrossolúveis, que foram quantificados anteriormente no extrato aquoso de SWE (Seção 5.3.4).

A alta pressão (10 MPa) de SWE e a rápida despressurização após a extração estão associadas ao cisalhamento da matriz analisada, podendo resultar na desfibrilação da celulose e na exposição das superfícies internas à fibra (DEEPA et al., 2011), como pode ser observado na **Figura 31 B**. Resultados similares são obtidos no pré-tratamento mecânico de matrizes lignocelulósicas para a produção de nanofibra de celulose, no qual as fibrilas e as nanofibrilas são expostas, promovendo maior área de contato e ligação entre as fibrilas (ABDUL KHALIL;

BHAT; IREANA YUSRA, 2012). Outras biomassas lignocelulósicas, como fibras de bananeira (DEEPA et al., 2011) e bagaço de cana-de-açúcar (HONGRATTANAVICHIT; AHT-ONG, 2020), após pré-tratamento hidrotérmico e pressurizado apresentaram eficiente desfibrilação da matriz e produção de nanofibra de celulose.

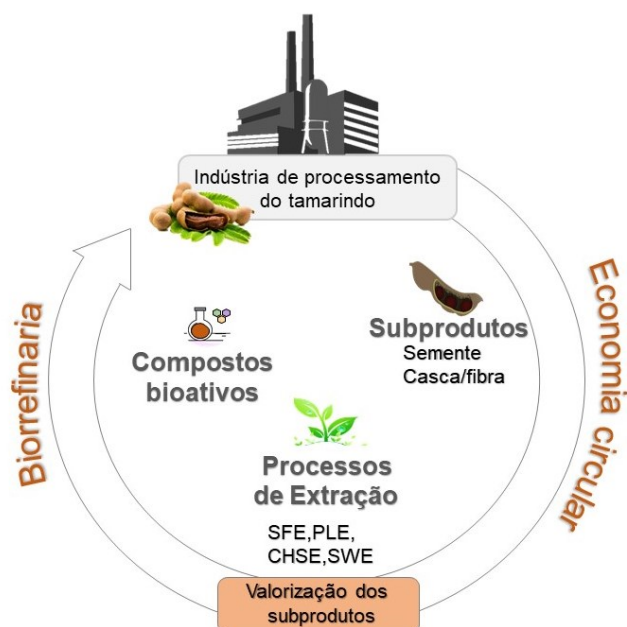
SWE-150 °C foi eficaz no rompimento da fibra e na formação de cavidades no grânulo da casca de tamarindo, corroborando com o maior rendimento (22,8%) obtido nesta condição (Seção 5.3.3). Esse resultado é relevante industrialmente, tendo em vista que a principal dificuldade em utilizar resíduos agroindustriais é a necessidade de pré-tratamentos para processar e desconstruir a biomassa bruta, antes da produção de nanofibra de celulose (TEO; WAHAB, 2020). Dessa forma, a partir dessa condição, investigações futuras da biomassa residual devem se concentrar nas etapas de branqueamento e tratamento mecânico para a completa fibrilação (escala nano) (ABDUL KHALIL; BHAT; IREANA YUSRA, 2012). Em seguida investigações a respeito da sua composição química, morfológica e propriedades térmicas são necessárias para avaliar a funcionalidade industrial da nanofibra produzida.

5.4 CONSIDERAÇÃO FINAL

Extratos de composição metabólica ativa foram obtidos eficientemente da casca de tamarindo a partir de métodos de extração pressurizados, quando comparados a extração convencional SOX. Os métodos de extração e as condições operacionais (temperatura e solvente) apresentaram forte influência na obtenção dos extratos funcionais. O melhor rendimento foi obtido em SWE a 150 °C (22,8%). No entanto, a capacidade seletiva para a obtenção de extratos com funcionalidade antioxidante foi evidenciada pelo uso de EtOH 50% a 100 °C, que combinado com PLE apresentou extrato de maior TPC ($201,6 \pm 0,8$ mg GAE·g⁻¹), e com MAE forneceu extrato de maior capacidade antioxidante (943,1-1918,8 μ mol TEAC·g⁻¹). Essa atividade pode estar relacionada, em especial, ao ácido tartárico e procianidinas, devido a maior intensidade dos picos cromatográficos nos extratos de MAE e PLE, respectivamente. O perfil fenólico dos extratos evidenciou também a presença de outros ácidos orgânicos e compostos fenólicos, dentre estes, ácido cítrico, ácido vanílico, rutina e orientina foram identificados pela primeira vez em extrato da casca de tamarindo. A micrografia das biomassas residuais confirmou que a atividade hidrolítica da água subcrítica (SWE) maximizou a exposição das regiões amorfas do material vegetal, podendo ser considerado um pré-tratamento na produção de nanofibra de celulose. A partir dessas condições de extração, distintas rotas de biorrefino da casca de tamarindo podem ser traçadas para a obtenção de produtos de baixo e alto valor agregado associados à indústria alimentícia e química.

CAPÍTULO 6

Proposta de recuperação de compostos de valor agregado dos subprodutos do processamento de tamarindo seguindo uma abordagem de biorrefinaria



6.1 INTRODUÇÃO

Nos capítulos anteriores foi demonstrado que o tamarindo, fruto difundido em mais de 50 países, é uma importante fonte nutricional e de compostos bioativos. No Brasil o tamarindo é classificado como exótico, mas sua participação é crescente no agronegócio das regiões Nordeste e Centro-Oeste (FERREIRA et al., 2019). Seu subproduto industrial, composto por casca, fibra e semente, é rico em fitoquímicos, como foi apresentado nos Capítulos 3 (semente) e 5 (casca+fibra). Em países asiáticos, especialmente Índia e Tailândia, esses subprodutos já integram a cadeia de processamento de produtos alimentícios (doces, geleias, embalagens biodegradáveis) e cosméticos (filtro solar, hidratante, sabonete, etc), representando biomassas promissoras para a aplicação do conceito de biorrefinaria e economia circular em outros países como o Brasil (BAGUL; SONAWANE; ARYA, 2015; MARTINS et al., 2020).

Seguindo os conceitos de bioeconomia circular, subprodutos agroindustriais podem ser convertidos em produtos de baixo valor econômico, como biocombustíveis, e em produtos de alto valor agregado, como extratos ricos em compostos bioativos, componentes químicos e aditivos (CHEMAT; VIAN; CRAVOTTO, 2012; DEL CASTILLO-LLAMOSAS et al., 2021). Na perspectiva de sustentabilidade ambiental, as principais vantagens da utilização de subprodutos agroindustriais como matérias-primas são o baixo custo e a redução dos impactos ambientais.

Diante do exposto, o objetivo deste capítulo é propor uma abordagem de biorrefinaria, com base nos resultados apresentados nos capítulos anteriores, e em estudos da literatura referentes a aplicação industrial das frações de baixo e alto valor agregado obtidos dos subprodutos de tamarindo (semente, casca+fibra).

6.2 PROPOSTA DE BIORREFINARIA PARA OS SUBPRODUTOS DE TAMARINDO

No Capítulo 3 as melhores condições de extração das frações lipídica, fenólica e polissacarídica da semente de tamarindo foram selecionadas de acordo com a atividade antioxidante (Seção 3.3.5) e a composição química (Seções 3.3.6 e 3.3.7). Posteriormente, no Capítulo 4, essas condições foram integradas, e três rotas de extração (Seção 4.2.1) foram avaliadas para potencializar a extração da fração polissacarídica da semente, com foco na obtenção e caracterização estrutural do xiloglucano. No Capítulo 5, as condições de extração da fração fenólica da mistura casca+fibra foram definidas, de acordo com a atividade antioxidante (Seção 5.3.5) e a composição química (Seção 5.3.6) dos extratos.

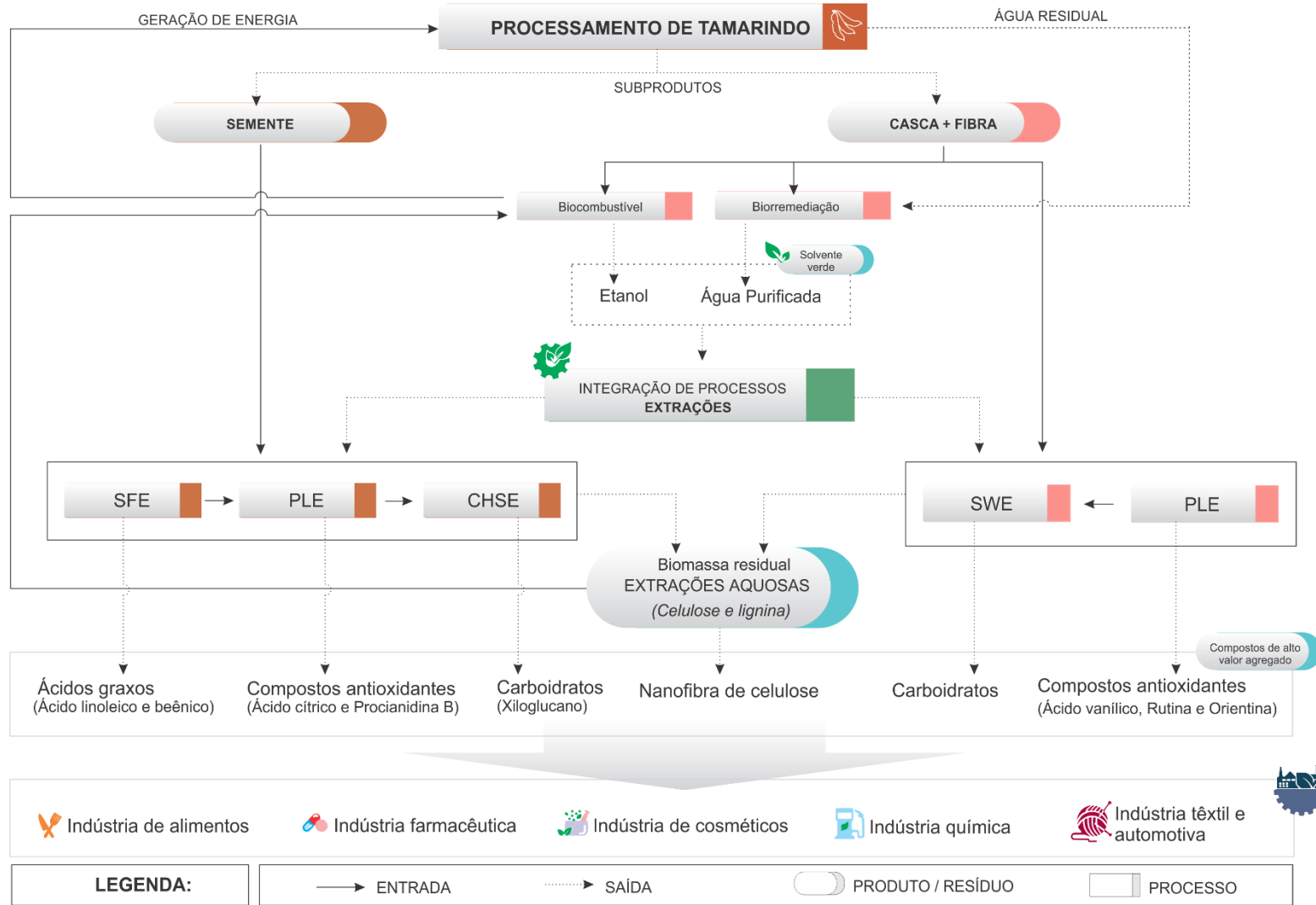
Os resultados reportados nos capítulos 3, 4 e 5 demonstraram que tecnologias verdes de extração (SFE, PLE, MAE e SWE) são promissoras para a valorização dos subprodutos de

tamarindo, fornecendo frações de baixo e alto valor agregado, que podem ser utilizadas em processos de biorremediação, produção de biocombustível e na elaboração de novos produtos, como alimentos, fármacos e cosméticos. Diante desses resultados, a **Figura 32** apresenta uma proposta de biorrefinaria para semente e casca+fibra de tamarindo.

Casca e fibra juntos correspondem entre 11 e 30 % do fruto inteiro do tamarindo (RAO; MATHEW, 2012). Esse material é formado especialmente por carboidratos ($13,8 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e fibras solúveis e insolúveis ($72,1 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (como reportado na seção 5.3.1), representadas por polissacarídeos estruturais, como celulose, hemicelulose e lignina (FERREIRA et al., 2019). Devido a sua composição lignocelulósica, casca e fibra, dentro de um conceito de biorrefinaria, como mostra a **Figura 32**, podem ser utilizadas de forma direta em processos de biorremediação de águas residuais do processamento da polpa de tamarindo, obtendo-se água purificada. Essa biomassa também pode ser utilizada como fonte de energia na produção de biocombustível, gerando etanol como produto. Água e etanol gerados nesses processos podem ser utilizados como solventes de extração de compostos de alto valor agregado da casca de tamarindo.

No Capítulo 5 (seção 5.3.4) foi demonstrado que o tratamento de casca+fibra a alta pressão usando um solvente hidroalcolóico em PLE com condições brandas ($<100 \text{ }^\circ\text{C}$), recuperou extrativos solúveis como ácidos orgânicos e compostos fenólicos (Seção 5.3.6), posteriormente, utilizando água em SWE ($<150 \text{ }^\circ\text{C}$), a hemicelulose pode ter sido hidrolisada obtendo-se uma biomassa residual (fase sólida) rica em lignina e celulose (Seção 5.3.7). A partir da integração de PLE e SWE, os extrativos hidroalcolóicos podem ser destinados para a elaboração de fármacos, devido sua atividade moluscicida e antibacteriana (OKOH et al., 2017; SONI; SINGH; SINGH, 2018) e para a produção de alimentos funcionais, devido sua atividade anti-lipase e sua ação como inibidor de obesidade e doenças associadas (BUCHHOLZ; MELZIG, 2016). Enquanto que a biomassa residual (após PLE+SWE) pode ser utilizada como matéria-prima para a produção de nanofibra de celulose, aplicável como reforço polimérico de embalagens, cápsulas, fabricação automotiva, tecidos para uso industrial e médico (mordante) (BINOJ; RAJ; DANIEL, 2017; BINOJ; RAJ; INDRAN, 2018; QUEIROZ et al., 2018).

Figura 32- Subprodutos do processamento de tamarindo em uma abordagem de biorrefinaria.



Fonte: Autor, 2022.

Os solventes verdes (água e etanol) gerados a partir de casca+fibra, também podem ser destinados para a recuperação de extrativos de média a alta polaridade presentes na semente de tamarindo. A semente foi investigada de forma aprofundada no presente estudo, uma vez que sua rica composição em ácidos graxos, compostos fenólicos e polissacarídeos é amplamente explorada em diferentes países.

No Capítulo 3 foi demonstrado que a partir de extrações a alta pressão (SFE e PLE) em condições brandas de temperatura (60 °C), frações lipídica e fenólica da semente de tamarindo são eficientemente recuperadas (Seção 3.3.3). Usando CO₂ como solvente em SFE foi recuperado uma fração de baixa polaridade, rica em UFA (ácidos linoléico e oleico) e SFA (ácidos lignocérico e beênico) (Seção 3.3.6), com potencial aplicação como conservante de emulsões cosméticas e alimentos, devido às suas propriedades antioxidante e antimicrobiana (RUIZ-RODRIGUEZ; REGLERO; IBÁÑEZ, 2010). A extração etanólica em PLE (Seção 3.3.7) proporcionou a recuperação de ácido cítrico, que pode ser utilizado como conservante na indústria alimentícia, e procianidinas tipo B e rutina, destinadas à produção de fármacos e alimentos funcionais, como potencial antidiabético, anti-inflamatório e antidiarreico (SUKSOMTIP; PONGSAMART, 2008; SARKAR; GHOSH, 2016; BHADORIYA et al., 2018).

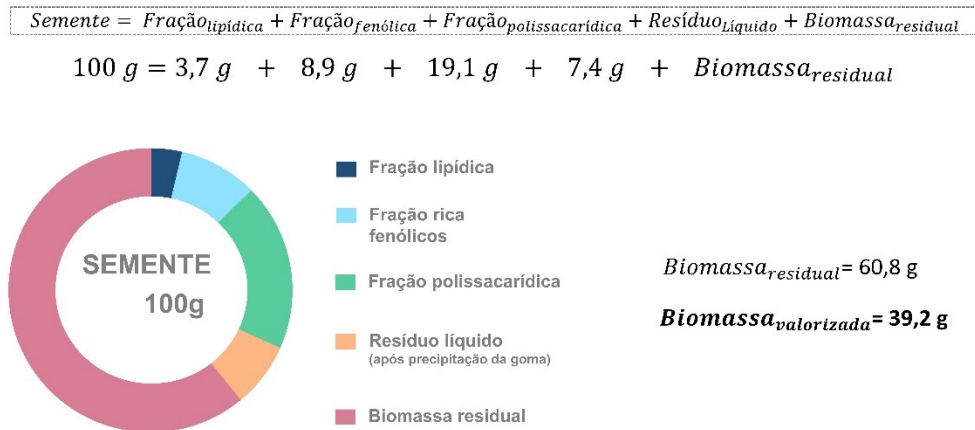
A integração das extrações a alta pressão (SFE e PLE) com o CHSE, como foi apresentado no Capítulo 4 (Seção 4.2.1) proporcionou a recuperação de frações lipídica (seção 3.3.6), fenólica (seção 4.3.5) e polissacarídica (seção 4.3.1 e 4.3.2) mais seletivas, quando comparado as outras rotas de biorrefino sugeridas, sendo uma alternativa viável para a proposta de biorrefinaria apresentada na **Figura 32**. A partir dessa integração de processos, a biomassa residual (após SFE+PLE) pode ser hidrolisada em CHSE utilizando apenas água como solvente, potencializando a recuperação da fração polissacarídica (Seção 4.3.1).

A fração polissacarídica, especialmente composta por XG (como demonstrado nas seções 4.3.3 e 4.3.4), é a mais relevante industrialmente. Devido as suas propriedades de aditivo alimentar, agente espessante, estabilizante e gelificante, aprovadas pelo FDA (*Food and Drug Administration*), o XG é o coproduto da semente mais versátil e comercializado no mundo (DUTTA; GIRI; GIRI, 2020). Na indústria de alimentos o XG pode ser utilizado como ingrediente funcional para o controle reológico de meios aquosos, como iogurtes e sucos, bem como agente geleificante na fabricação de embalagens biodegradáveis e revestimentos de frutas como mamão e goiaba, prolongando sua vida útil (JANGDEY et al., 2016; RODRIGUES et al., 2018; SANTOS et al., 2019a). No Japão, o XG é comercializado com a marca Glyloid® a mais de 50 anos, sendo utilizado na incorporação de molhos, para melhorar a viscosidade, em

sobremesas congeladas, para produzir cristais de gelo mais finos, e em bebidas, para melhorar a estabilidade e mascarar o sabor amargo (KULKARNI et al., 2017). Na indústria farmacêutica o XG pode ser utilizado como material de parede de cápsulas atuando na entrega controlada de drogas e no tratamento de doença gastrointestinal, devido a sua eficiente inibição de radicais livres e ação antioxidante (PERIASAMY et al., 2018; DUTTA; GIRI; GIRI, 2020). Na indústria cosmética e química o XG pode ser aplicado como estabilizante de emulsões, espessante de tintas para impressão têxtil e agente cremoso no látex (MISHRA; MALHOTRA, 2009; WAQAS et al., 2014).

A integração dos processos SFE+PLE+CHSE recuperou um percentual total de extraíveis de 39,1 %, como apresentado no balanço de massa da **Figura 33**. Assim, após a recuperação das frações de alto valor agregado, a biomassa residual da semente (cerca de 60%) pode ser destinada ainda como fonte de carboidratos não extraíveis, como celulose e lignina, por exemplo, podendo ser utilizada como matéria-prima para a produção de biocombustível, contribuindo para a geração de energia e retornando à cadeia de processamento do tamarindo (fechando o ciclo).

Figura 33 - Representação gráfica do balanço de massa das frações extraíveis recuperadas da semente de tamarindo a partir da integração dos processos SFE +PLE +CHSE.



Fonte: Autor, 2022.

Embora os custos operacionais dos métodos de extração propostos ainda não tenham sido analisados, os resultados reportados no presente estudo demonstraram que as frações de alto e baixo valor agregado recuperadas dos subprodutos do tamarindo são de grande relevância para diferentes setores industriais.

CAPÍTULO 7

Conclusão e sugestão de trabalhos futuros



7.1 CONCLUSÃO GERAL

Semente e casca+fibra de tamarindo, subprodutos do processamento deste fruto, podem ser eficientemente valorizados a partir de métodos de extração a alta pressão, frente aos métodos convencionais (SOX e CHSE). Os diferentes métodos avaliados, as condições de processo empregadas e os solventes utilizados definem os produtos que podem ser recuperados dos resíduos, influenciando na extração, composição e funcionalidade dos extratos.

A composição proximal das matrizes estudadas demonstrou que a semente de tamarindo é rica em carboidratos ($50,8 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), proteínas ($20,7 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) e lipídeos ($5,3 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Casca+fibra é composta majoritariamente por fibras totais ($72,1 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) seguido de carboidratos ($13,8 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Esta composição corrobora com as frações bioativas mais exploradas e de maior funcionalidade industrial em cada resíduo, com destaque especial para as frações lipídica, fenólica e polissacarídica da semente e frações fenólica e fibrosa da casca.

A fração lipídica da semente de tamarindo foi obtida com maiores rendimentos em SOX com hexano (SOX-Hexano) (5,5%), seguido de SFE com CO_2 supercrítico (3,7%). O extrato oleoso obtido em SFE à 25 MPa / 60 °C, composto por 73,7 % de UFA (ácidos lignocérico e behênico), é uma atraente fonte nutricional e funcional para aplicação em alimentos. Alguns SFA (ácidos lignocérico e behênico), também detectados neste extrato possuem características promissoras para uso farmacêutico e cosmético.

O uso de água subcrítica (SWE) foi promissor para a recuperação do maior rendimento da fração polar de semente à 170 °C (20,0%) e de casca+fibra à 150 °C (20,8%). Enquanto que extratos etanólicos da semente obtidos em PLE (10 MPa/60 °C) apresentaram maior conteúdo fenólico total (TPC) e capacidade antioxidante. Para casca+fibra, o uso de etanol aquoso (50%) aplicado em PLE (10 MPa/100°C) forneceu o extrato de maior TPC, e nesta mesma condição em MAE forneceu o extrato de maior capacidade antioxidante. Polifenóis, flavonoides e alguns ácidos orgânicos foram identificados nos extratos de semente e casca+fibra. Ênfase especial é dada ao ácido cítrico, ácido vanílico, rutina e orientina, que foram relatados pela primeira vez em extratos da casca+fibra de tamarindo.

A partir da extração aquosa da semente em PLE (60 °C/40 min) foi obtido um extrato com 77 % do valor de proteína desta matriz ($20,7 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s}$), o que o torna uma atrativa fonte de proteínas para incorporação em alimentos funcionais e produtos *plant-based* (hambúrguer, bala de goma, iogurtes, etc.). Com foco nos carboidratos da semente integral, o uso de PLE (80 °C/40 min) também se mostrou promissor, possibilitando a recuperação de 14,5 % do valor total de carboidratos ($50,8 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ m.s}$). Dessa forma, foi proposto um processamento integrado em ordem crescente de polaridade, com processo inicial de

desengorduramento da semente para melhorar a recuperação da fração fenólica, e posteriormente potencializar a extração aquosa da fração polissacarídica (goma). A integração dos processos SFE + PLE + CHSE possibilitou a recuperação de uma fração lipídica, rica em UFA, o aumento no desempenho antioxidante da fração fenólica (rica em fenólicos antioxidantes) e a obtenção de uma goma de elevado rendimento (19,1 %), coloração vermelho clara de baixa intensidade e composta de xiloglucano, polissacarídeo de alta estabilidade térmica (até 300 °C), extraído pela primeira vez com água pura pressurizada.

Diante dos conceitos de biorrefinaria e economia circular, apresentados pela primeira vez para a valorização de semente e casca+fibra de tamarindo, métodos a alta pressão, como o PLE e SWE, relatados ineditamente neste estudo, podem ser utilizados isoladamente ou combinados, integrando uma rota de recuperação das frações de baixo e alto valor agregado associadas a diferentes setores industriais, desde a biorremediação e produção de combustível até a recuperação de frações bioativas para aplicação em alimentos, fármacos e cosméticos.

7.2 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Testar outras concentrações de etanol, como o uso de etanol azeótropo para a obtenção da fração fenólica da semente de tamarindo.
- Caracterizar os resíduos sólidos e líquidos obtidos nas rotas integradas da semente, em relação a composição química (carboidratos, proteínas).
- Caracterizar as propriedades tecnológicas (geleificante, emulsionante, etc.) das gomas da semente obtidas nas rotas integradas.
- Testar as gomas da semente no desenvolvimento de produtos alimentícios e/ou cosméticos.
- Analisar o conteúdo de carboidratos totais e açúcares redutores obtidos nos extratos da casca+fibra.
- Caracterizar a composição química, morfológica e as propriedades térmicas da nanofibra de celulose obtida da biomassa residual da extração de casca+fibra.
- Realizar análise técnico-econômica e avaliação do ciclo de vida a partir das rotas de biorrefino propostas para semente e casca de tamarindo.

REFERÊNCIAS

- ABDUL KHALIL, H. P. S.; BHAT, A. H.; IREANA YUSRA, A. F. Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 2, p. 963–979, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.078>>.
- ABU-REIDAH, I. M. et al. HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Chemistry**, v. 166, p. 179–191, 2015.
- ADDOUN, N. et al. Structural features and rheological behavior of a water-soluble polysaccharide extracted from the seeds of *Plantago ciliata* Desf. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 155, p. 1333–1341, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.106>>.
- AENGWANICH, W. et al. Antibiotic Effect of Polyphenolic Compound Extracted from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Seed Coat on Productive Performace of Broilers. **International Journal of Poultry Science**, v. 8, n. 8, p. 749–751, 2009.
- AJAYI, I. A. et al. Oil content and fatty acid composition of some underutilized legumes from Nigeria. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 115–120, 2006.
- ALANÓN, M. E. et al. Extraction of natural flavorings with antioxidant capacity from cooperage by-products by green extraction procedure with subcritical fluids. **Industrial Crops and Products**, v. 103, p. 222–232, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.050>>.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Extraction of phenolic compounds : A review. **Current Research in Food Science**, v. 4, n. December 2020, p. 200–214, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>>.
- ALONSO-SALCES, R. M. et al. Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple. **Journal of Chromatography A**, v. 933, n. 1–2, p. 37–43, 2001.
- ALPIZAR-REYES, E. et al. Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid. **Journal of Food Engineering**, v. 209, p. 68–75, 2017.
- ALPIZAR-REYES, E. et al. Microencapsulation of sesame seed oil by tamarind seed mucilage. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 207–215, 2020.
- ANDRADE, K. S.; PONCELET, D.; FERREIRA, S. R. S. Sustainable extraction and encapsulation of pink pepper oil. **Journal of Food Engineering**, v. 204, p. 38–45, 2017.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão Phenolic compounds in foods – A brief review. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- AOAC, A. O. O. A. C. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 1925. . (Nota t?cnica).
- AOAC, A. O. O. A. C. **Association Of Official Analytical Chemists**. Washington: , 1997. . (Nota t?cnica).
- AOAC, A. O. O. A. C. **Association Of Official Analytical Chemists**, 2000. . (Nota t?cnica).

- AOAC, A. O. O. A. C. **Fiber (crude) in animal feed and pet food. Ceramic fiber filter method**, 2010. . (Nota t?cnica).
- AOAC, A. O. O. A. C. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Gaithersburg, Maryland, USA: , 2012. . (Nota t?cnica).
- APAK, R. et al. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 2. Hydrogen Atom Transfer (HAT)-Based, Mixed-Mode (Electron Transfer (ET)/HAT), and Lipid Peroxidation Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 5, p. 1028–1045, 2016a.
- APAK, R. et al. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 5, p. 997–1027, 2016b.
- APAK, R. et al. Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 5, p. 997–1027, 2016c.
- APAK, R.; CAPANOGLU, E.; SHAHIDI, F. **Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent trends and applications**. [s.l.] Fuctional Food Science and Technology, 2018.
- ARAUJO, M. N. et al. A biorefinery approach for spent coffee grounds valorization using pressurized fluid extraction to produce oil and bioproducts: A systematic review. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, n. March, 2022.
- ATAWODI, S. .; LIMAN, M. .; ONYKE, E. . Antioxidant Effects of Tamarindus indica following Acute and Chronic Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 15, n. 3, p. 410–418, 2013.
- ATTARD, T. M. et al. Supercritical extraction of waxes and lipids from biomass : A valuable fi rst step towards an integrated biore fi nery. **Journal of Cleaner Production**, v. 177, p. 684–698, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.12.155>>.
- AVRAAMIDOU, S. et al. Circular Economy - A challenge and an opportunity for Process Systems Engineering. **Computers and Chemical Engineering**, v. 133, p. 1–12, 2019.
- AZAD, S. Tamarindo— Tamarindus indica. In: RODRIGUES, S.; SILVA, E. DE O.; DE BRITO, E. S. (Ed.). **Exotic Fruits**. Fortaleza: Elsevier, 2018. p. 403–412.
- AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials : A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>>.
- BAGUL, M. B.; SONAWANE, S. K.; ARYA, S. S. Bioactive characteristics and optimization of tamarind seed protein hydrolysate for antioxidant - rich food formulations. **3 Biotech**, v. 8, n. 218, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13205-018-1240-0>>.
- BAGUL, M.; SONAWANE, S. K.; ARYA, S. S. Tamarind seeds: Chemistry, technology, applications and health benefits: A review. **Indian Food Industry Mag**, v. 34, n. 3, p. 28–35, 2015.
- BAIYERI, P. K.; UGESE, F. D.; NWOBODO, C. E. Diversity , food , nutrition and medicinal

importance of some selected less-known African indigenous tropical plant species : advocacy for global research attention. **CAB Reviews**, v. 14, n. 012, p. 1–20, 2019.

BALLESTEROS-VIVAS, D. et al. Pressurized Liquid Extraction of Bioactives. **Reference Module in Food Science**, 2020.

BANERJEE, J. et al. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. **Food Chemistry**, v. 225, p. 10–22, 2017. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.093>>.

BANOŽIĆ, M.; BABIĆ, J.; JOKIĆ, S. Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. **Industrial Crops and Products**, v. 144, n. November 2019, 2020.

BARTOSZ, G. Non-enzymatic antioxidant capacity assays: Limitations of use in biomedicine. **Free Radical Research**, v. 44, n. 7, p. 711–720, 7 jul. 2010. Disponível em:

<<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10715761003758114>>.

BASEGMEZ, H. I. et al. Biorefining of blackcurrant pomace into high value functional ingredients using supercritical CO₂, pressurized liquid and enzyme assisted extractions. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 124, p. 10–19, 2017.

BAUM, S. J. et al. Fatty acids in cardiovascular health and disease: A comprehensive update. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 6, n. 3, p. 216–234, 2012.

BAYOÍ, J. R.; FOUNDIKOU, B. Y.; ETOA, F. X. In vitro bioactive properties of the tamarind (*Tamarindus indica*) leaf extracts and its application for preservation at room temperature of an indigenous roselle (*Hibiscus sabdariffa*)-based drink. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 6, p. 100241, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100241>>.

BEHROUZIAN, F.; RAZAVI, S. M. A.; PHILLIPS, G. O. Cress seed (*Lepidium sativum*) mucilage, an overview. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 3, n. 1, p. 17–28, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.01.001>>.

BENELLI, P. et al. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 1, p. 132–141, 2010.

BENZIE, I. F. F.; DEVAKI, M. The Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. In: APAK, R.; CAPANOGLU, E.; SHAHIDI, F. (Ed.). **Measurement of Antioxidant Activity & Capacity Recent trends and applications**. First Edit ed. [s.l: s.n.]p. 77–104.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996a.

Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C6AY01739H>>.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 31, p. 70–76, 1996b.

BERNHOF, A. **Bioactive compounds in plants – benefits and risks for man and animals**. [s.l:

s.n.]

BHADORIYA, S. S. et al. Tamarindus indica : Extent of explored potential. **Pharmacognosy Reviews**, v. 5, n. 9, p. 73–81, 2011. Disponível em:

<<http://www.phcogrev.com/text.asp?2011/5/9/73/79102>>.

BHADORIYA, S. S. et al. Antidiabetic potential of polyphenolic-rich fraction of Tamarindus indica seed coat in alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 29, n. 1, p. 37–45, 2018.

BHATTACHARYA, S. et al. Functional and nutritional properties of tamarind (Tamarindus indica) kernel protein. **Food Chemistry**, v. 49, n. 1, p. 1–9, 1994.

BINOJ, J. S.; RAJ, R. E.; DANIEL, B. S. S. Comprehensive characterization of industrially discarded fruit fiber , Tamarindus indica L . as a potential eco-friendly bioreinforcement for polymer composite. **Journal of Cleaner Production**, v. 142, p. 1321–1331, 2017. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.09.179>>.

BINOJ, J. S.; RAJ, R. E.; INDRAN, S. Characterization of industrial discarded fruit wastes (Tamarindus Indica L.) as potential alternate for man-made vitreous fiber in polymer composites. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 116, p. 527–534, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.02.019>>.

BIONDO, P. B. F. et al. Evaluation of beetroot (Beta vulgaris L.) leaves during its developmental stages: A chemical composition study. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 94–101, 2014.

BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G. New Method for Quantitative of Uranic Acids. **Analytical Biochemistry**, v. 54, p. 484–489, 1973.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRUNNER, G. Applications of Supercritical Fluids. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 1, n. 1, p. 321–342, 2010. Disponível em:

<<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-chembioeng-073009-101311>>.

BUBALO, M. C. et al. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. **Food and Bioproducts Processing**, v. 109, p. 52–73, 2018.

BUCHHOLZ, T.; MELZIG, M. F. Medicinal Plants Traditionally Used for Treatment of Obesity and Diabetes Mellitus – Screening for Pancreatic Lipase and α -Amylase Inhibition. **Phytotherapy Research**, v. 30, p. 260–266, 2016.

BURSAC KOVAČEVIĆ, D. et al. Pressurized hot water extraction (PHWE) for the green recovery of bioactive compounds and steviol glycosides from Stevia rebaudiana Bertoni leaves. **Food Chemistry**, v. 254, n. September 2017, p. 150–157, 2018.

CALUWÉ, E. de; HALAMOVÁ, K.; DAMME, P. Van. Tamarind (Tamarindus indica L.): A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Afrika Focus**, v. 23, n. 1, p. 53–83, 2010.

- CARDOSO-UGARTE, G. A. et al. Microwave-assisted extraction of betalains from red beet (*Beta vulgaris*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 276–282, 2014.
- CASQUETE, R. et al. Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 31, p. 37–44, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.07.005>>.
- CASTRO-VARGAS, H. I. et al. Valorization of papaya (*Carica papaya* L.) agroindustrial waste through the recovery of phenolic antioxidants by supercritical fluid extraction. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 6, p. 3055–3066, 2019.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2nd ed ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2003.
- CHACÓN-FERNÁNDEZ, M. G. et al. Composition, properties, stability and thermal behavior of tamarind (*Tamarindus indica*) seed oil. **Grasas y Aceites**, v. 70, n. 4, p. 1–10, 2019.
- CHAGAS-PAULA, D. A. et al. A metabolomic approach to target compounds from the asteraceae family for dual COX and LOX inhibition. **Metabolites**, v. 5, n. 3, p. 404–430, 2015.
- CHEMAT, F. et al. Solvent-free extraction of food and natural products. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 157–168, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.021>>.
- CHEMAT, F. et al. Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 41, n. November 2016, p. 357–377, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>>.
- CHEMAT, F. et al. Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 248–263, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.037>>.
- CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; CRAVOTTO, G. Green Extraction of Natural Products : Concept and Principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 8615–8627, 2012.
- CHERTOW, M. R. Industrial Symbiosis: Literature and Taxonomy. **Annual Review Energy Environmental Management**, v. 25, p. 313–337, 2000.
- CHERUBINI, F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 7, p. 1412–1421, 2010.
- CHUNGLOK, W. et al. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Non-Edible Parts of Selected Tropical Fruits. **Sains Malaysiana**, v. 43, n. 5, p. 689–696, 2014.
- CICCO, N. et al. A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. **Microchemical Journal**, v. 91, n. 1, p. 107–110, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2008.08.011>>.
- COELHO, E. M. et al. Physico-chemical properties, rheology and degree of esterification of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) peel flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 1, p. 166–173, 2018.

- CORATO, U. de et al. Assessing the main opportunities of integrated biorefining from agro-bioenergy co/by-products and agroindustrial residues into high-value added products associated to some emerging markets: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 88, p. 326–346, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.02.041>>.
- COSTA, R. G. et al. Biochemical and hormonal parameters of lambs using guava (*Psidium guajava* L.) agro-industrial waste in the diet. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 1, p. 217–221, 2018.
- CRAFT, B. D. et al. Phenol-Based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for Their Assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, n. 2, p. 148–173, 2012.
- CRISPÍN-ISIDRO, G. et al. Influence of purification on physicochemical and emulsifying properties of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed gum. **Food Hydrocolloids**, v. 93, p. 402–412, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.046>>.
- CRUZ, P. N. et al. Antioxidant and Antibacterial Potential of *Butia* (*Butia Catarinensis*) Seed Extracts Obtained by Supercritical Fluid Extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 229–237, jan. 2017.
- CVETANOVIĆ, A. et al. *Tamarindus indica* L. Seed: Optimization of Maceration Extraction Recovery of Tannins. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 3, p. 579–590, 2020.
- DA SILVA, G. S. et al. Chemical profiling of guarana seeds (*Paullinia cupana*) from different geographical origins using UPLC-QTOF-MS combined with chemometrics. **Food Research International**, v. 102, p. 700–709, dez. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996917306397>>.
- DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010.
- DE PAOLI, M.-A. **Degradação e Estabilização De Polímeros**. 2º Edição ed. [s.l.] Chemkeys, 2008.
- DEEPA, B. et al. Structure, morphology and thermal characteristics of banana nano fibers obtained by steam explosion. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 1988–1997, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.030>>.
- DEL CASTILLO-LLAMOSAS, A. et al. Recent advances to recover value-added compounds from avocado by-products following a biorefinery approach. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 28, p. 100433, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100433>>.
- DESTANDAU, E.; MICHEL, T.; ELFAKIR, C. Microwave-assisted Extraction. In: **Natural Product Extraction: Principles and Applications**. [s.l.: s.n.]p. 113–152.
- DEUTZ, P.; GIBBS, D. Industrial ecology and regional development: Eco-industrial development as cluster policy. **Regional Studies**, v. 42, n. 10, p. 1313–1328, 2008.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- DUTTA, P.; GIRI, S.; GIRI, T. K. Xyloglucan as green renewable biopolymer used in drug delivery

- and tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 55–68, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.148>>.
- DZAH, C. S. et al. Latest developments in polyphenol recovery and purification from plant by-products: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 99, n. March, p. 375–388, 2020.
- EKEZIE, F. G. C.; SUN, D. W.; CHENG, J. H. Acceleration of microwave-assisted extraction processes of food components by integrating technologies and applying emerging solvents: A review of latest developments. **Trends in Food Science and Technology**, v. 67, p. 160–172, 2017.
- EL-SIDDEG, K. et al. Tamarind (*Tamarindus indica* L.). In: **Fruits for the Future**. [s.l.: s.n.]43p. 1–188.
- ERŞAN, S. et al. Subcritical water extraction of phenolic and antioxidant constituents from pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls. **Food Chemistry**, v. 253, n. January, p. 46–54, 2018.
- ETOH, H. et al. Sub-critical water extraction of residual green tea to produce a roasted green tea-like extract. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 74, n. 4, p. 858–860, 2010.
- FARIAS, M. D. P. et al. Xyloglucan from *Hymenaea courbaril* var. *courbaril* seeds as encapsulating agent of L-ascorbic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, p. 1559–1566, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.016>>.
- FERREIRA, K. C. et al. Physical-chemical characterization and technological and thermal properties of tamarind (*Tamarindus indica* L.) from the cerrado of Goiás, Brazil. **Carpathian Journal of Food Science and Technology**, v. 11, n. 3, p. 94–106, 2019.
- FERRO, D. M. 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, 2019a. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896844619300324>>.
- FERRO, D. M. et al. Integrated extraction approach to increase the recovery of antioxidant compounds from *Sida rhombifolia* leaves. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 149, p. 10–19, 1 jul. 2019b. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896844619300324>>. Acesso em: 19 jun. 2019.
- FILHO, F. O. et al. Effect of pulsed light on postharvest disease control-related metabolomic variation in melon (*Cucumis melo*) artificially inoculated with *Fusarium pallidoroseum*. **PLOS ONE**, v. 15, n. 4, p. 1–18, 20 abr. 2020. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0220097>>.
- FIORENTINO, G.; RIPA, M. Chemicals from biomass: technological versus environmental feasibility. A review. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 11, p. 195–214, 2017.
- FLÓREZ, N.; CONDE, E.; DOMÍNGUEZ, H. Microwave assisted water extraction of plant compounds. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 90, n. 4, p. 590–607, 2015.
- FRAGA, C. G.; OTEIZA, P. I. Dietary flavonoids: Role of (-)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 4, p. 813–823, 2011.
- FRANQUIN-TRINQUIER, S. et al. Optimization of the extraction of apple monomeric phenolics based on response surface methodology: Comparison of pressurized liquid-solid extraction and

- manual-liquid extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 1, p. 56–67, 2014.
- FRANZEN, H.; KAISER, H. Über die durch Bleiacetat fallbaren Säuren der Tamarinden (*Tamarindus indica*). **Archiv für mikroskopische Anatomie**, p. 81–94, 1923.
- FREITAS, L. C. et al. From waste to sustainable industry: How can agro-industrial wastes help in the development of new products? **Resources, Conservation and Recycling**, v. 169, n. August 2020, 2021.
- FREITAS, R. A. et al. Physico-chemical properties of seed xyloglucans from different sources. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, n. 4, p. 507–514, 2005.
- GALLO, M. et al. Supercritical fluid extraction of pyrethrins from pyrethrum flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) compared to traditional maceration and cyclic pressurization extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 104–112, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2016.09.012>>.
- GANESAPILLAI, M.; VENUGOPAL, A.; SIMHA, P. Preliminary isolation , recovery and characterization of polyphenols from waste *Tamarindus indica* L . **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 9, p. 10658–10661, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.06.438>>.
- GARCIA-AMEZQUITA, L. E. et al. Differences in the dietary fiber content of fruits and their by-products quantified by conventional and integrated AOAC official methodologies. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 67, n. January, p. 77–85, 2018.
- GETACHEW, A. T.; CHUN, B. S. Molecular modification of native coffee polysaccharide using subcritical water treatment: Structural characterization, antioxidant, and DNA protecting activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 555–562, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.034>>.
- GINNI, G. et al. Valorization of agricultural residues: Different biorefinery routes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 4, p. 105435, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105435>>.
- GOMIDE, R. **OPERAÇÕES UNITARIAS - 3º Volume: separações mecânicas**. Volume 3 ed. [s.l: s.n.]
- GONZÁLEZ, I.; MORALES, M. A.; ROJAS, A. Polyphenols and AGEs/RAGE axis. Trends and challenges. **Food Research International**, v. 129, n. December 2019, p. 108843, 2020.
- GOYAL, P.; KUMAR, V.; SHARMA, P. Carboxymethylation of Tamarind kernel powder. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 2, p. 251–255, 2007.
- GUEDES, J. A. C. et al. Comparative analyses of metabolic fingerprint integrated with cytotoxic activity and *in silico* approaches of the leaves extract of *Spondias mombin* L. and *Spondias tuberosa* Arr. Cam. from Northeast, Brazil. **Phytochemistry Letters**, v. 40, n. September, p. 26–36, dez. 2020.
- GUERIN, J. .; REVEILLERE, H. . Antifungal activity of plant extracts used in therapy. 1: Study of 41 plant extracts against 9 fungi species [*Saccharomyces pastorianus*, *Candida albicans*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatu*. **Annals of**

Pharmacotherapy, v. 42, p. 553–559, 1984.

GUINDANI, C. et al. Valorization of chia (*Salvia hispanica*) seed cake by means of supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 67–75, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2016.02.010>>.

GULLÓN, B. et al. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. **Trends in Food Science and Technology**, v. 67, p. 220–235, 2017.

GUMGUMJEE, N. M.; KHEDR, A.; HAJAR, A. S. Antimicrobial activities and chemical properties of *Tamarindus indica* L. leaves extract. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 32, p. 6172–6181, 2012.

GUO, J. B. et al. Microwave-assisted decomposition coupled with acidic food condiment as an efficient technology for ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) processing. **Separation and Purification Technology**, v. 146, p. 219–226, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2015.03.049>>.

GUPTA, R.; GUPTA, J. Investigation of antidiarrhoeal activity of ethanolic extract of *Tamarindus indica* L. seeds in albino wistar rats. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 10, n. 4, p. 2–6, 2017.

GUPTA, S. et al. Tamarind kernel gum: An upcoming natural polysaccharide. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 1, n. 1, p. 50, 2010.

GUTHRIE, F. et al. Recovery of phenolic antioxidants from green kiwifruit peel using subcritical water extraction. **Food and Bioproducts Processing**, v. 122, p. 136–144, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.05.002>>.

HAGHIGHI, A.; KHAJENOORI, M. **Subcritical Water Extraction**. [s.l.: s.n.]

HAO, W. et al. Effects of extraction methods on immunology activity and chemical profiles of *Lycium barbarum* polysaccharides. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 185, p. 113219, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113219>>.

HAVINGA, R. M. et al. *Tamarindus indica* L. (Fabaceae): Patterns of use in traditional African medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 3, p. 573–588, 2010.

HERRERO, M. et al. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 67–83, 2013.

HERRERO, M. et al. Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 26–38, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.01.018>>.

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

HERRERO, M.; IBÁÑEZ, E. Green extraction processes, biorefineries and sustainability: Recovery of

high added-value products from natural sources. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 134, p. 252–259, 2018.

HEWAVITHARANA, G. G. et al. Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 6865–6875, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.06.039>>.

HONGRATTANAVICHIT, I.; AHT-ONG, D. Nanofibrillation and characterization of sugarcane bagasse agro-waste using water-based steam explosion and high-pressure homogenization. **Journal of Cleaner Production**, v. 277, p. 123471, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123471>>.

HUANG, Z.; SHI, X.; JIANG, W. Theoretical models for supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 2–26, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967312005894>>.

HUNT, R. W. .; POINTER, M. R. **Measuring Colour**. 4th. ed. [s.l.] Wiley, 2011.

JANA, S. et al. Aceclofenac-loaded chitosan-tamarind seed polysaccharide interpenetrating polymeric network microparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 105, p. 303–309, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.013>>.

JANGDEY, M. S. et al. Assessment of Utilization , Value addition and characterization of Tamarind : A Natural Gum of Chhattisgarh. **International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences**, v. 5, n. 2, p. 323–334, 2016.

JEYARATNAM, N. et al. Essential oil from Cinnamomum cassia bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 57–66, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.049>>.

KACURAKOVÁ, M. et al. Hydration Properties of Xylan-Type Structures : an FTIR Study of Xylooligosaccharides. **Journal of the Science and Food of Agriculture**, v. 77, p. 38–44, 1998.

KHEIRKHAH, H.; BAROUTIAN, S.; QUEK, S. Y. Evaluation of bioactive compounds extracted from Hayward kiwifruit pomace by subcritical water extraction. **Food and Bioproducts Processing**, v. 115, p. 143–153, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.03.007>>.

KIND, T.; FIEHN, O. Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry. **BMC Bioinformatics**, v. 8, n. 1, p. 105, 27 dez. 2007. Disponível em: <<https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-8-105>>.

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

KOZIOŁ, A. et al. Evaluation of Structure and Assembly of Xyloglucan from Tamarind Seed (Tamarindus indica L.) with Atomic Force Microscopy. **Food Biophysics**, v. 10, n. 4, p. 396–402, 2015.

KULKARNI, A. D. et al. Xyloglucan: A functional biomacromolecule for drug delivery applications.

- International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 799–812, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.088>>.
- KWAN, T. A.; TU, Q.; ZIMMERMAN, J. B. Simultaneous Extraction, Fractionation, and Enrichment of Microalgal Triacylglycerides by Exploiting the Tunability of Neat Supercritical Carbon Dioxide. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 4, n. 11, p. 6222–6230, 7 nov. 2016. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acssuschemeng.6b02214>>.
- LASTA, H. F. B. et al. Pressurized liquid extraction applied for the recovery of phenolic compounds from beetroot waste. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, n. July, 2019.
- LI, Z. et al. Identification of components and metabolites in plasma of type 2 diabetic rat after oral administration of Jiao-Tai-Wan using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 13, p. 2690–2707, 5 jul. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jssc.201901040>>.
- LIMA, F. D. C. et al. An overview of applications in pineapple agroindustrial residues. **Acta Agriculturae Slovenica**, v. 111, n. 2, p. 445–462, 2018.
- LIMSANGOUAN, N. et al. Physical and chemical properties, antioxidant capacity, and total phenolic content of xyloglucan component in tamarind (*Tamarindus indica*) seed extracted using subcritical water. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 10, p. 1–10, 2019.
- LIMSANGOUAN, N. et al. High pressure processing of tamarind (*Tamarindus indica*) seed for xyloglucan extraction. **Lwt**, v. 134, n. April, p. 110112, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110112>>.
- LIU, Y. et al. Characterization of fractional polysaccharides from *Gleditsia sinensis* and *Gleditsia microphylla* gums. **Molecules**, v. 21, n. 12, p. 1–10, 2016.
- LLOMPART, M.; CELEIRO, M.; DAGNAC, T. Microwave-assisted extraction of pharmaceuticals, personal care products and industrial contaminants in the environment. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 136–150, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.029>>.
- LUENGTHANAPHOL, S. et al. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat - preliminary experiments. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 247–252, 2004.
- LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Antioxidant activity, fatty acid profile and tocopherols of *Tamarindus indica* L. seeds. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 497–501, 2011.
- MACAGNAN, F. T. et al. Biological properties of apple pomace, orange bagasse and passion fruit peel as alternative sources of dietary fibre. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 6, n. 1, p. 1–6, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2015.04.001>>.
- MACHADO, A. P. D. F. et al. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. **Food Research International**, v. 77, p. 675–683, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.042>>.
- MACK, I.; ANDRIEKUS, T.; VENSKUTONIS, P. R. Biorefining of buckwheat (*Fagopyrum*

- esculentum) hulls by using supercritical fluid , Soxhlet , pressurized liquid and enzyme-assisted extraction methods. **Journal of Food Engineering**, v. 213, p. 38–46, 2017.
- MAGALHÃES JÚNIOR, A. I. et al. Challenges in the production of second-generation organic acids (potential monomers for application in biopolymers). **Biomass and Bioenergy**, v. 149, n. December 2020, 2021.
- MAIA, J. D.; ALICIEO, T. V. R. Extração Supercrítica Aplicada a Frutas - Revisão. **Revista Inova Ciência & Tecnologia / Innovative Science & Technology Journal**, v. 3, n. 2, p. 36–48, 2017. Disponível em: <<http://editora.iftm.edu.br/index.php/inova/article/view/162>>.
- MAITI, R.; DE, D.; GHOSH, D. Antidiabetic effect of n-hexane fraction of hydro-methanolic extract of tamarindus indica linn. seed in streptozotocin-induced diabetic rat: a correlative approach with in vivo and in vitro antioxidant activities. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 5, p. 1821–1830, 2018.
- MAKRIS, D. P. Green extraction processes for the efficient recovery of bioactive polyphenols from wine industry solid wastes – Recent progress. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 13, p. 50–55, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.03.013>>.
- MANCHANDA, R.; ARORA, S. .; MANCHANDA, R. Tamarind seed polysaccharide and its modifications-versatile pharmaceutical excipients—A review. **Int. J. Pharm. Technol. Res.**, v. 6, n. 2, p. 412–420, 2014. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/4745/59053aab57a47c783ec7db4ee28d7d3bfafb.pdf>>.
- MARENDA, F. R. B. et al. Advances in Studies Using Vegetable Wastes to Obtain Pectic Substances: A Review. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 27, n. 3, p. 549–560, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10924-018-1355-8>>.
- MARGRAF, T. et al. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates. **Food Chemistry**, v. 80, n. 11, p. 2397–2403, 2015.
- MARKOM, M. et al. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 3, p. 487–496, 2007.
- MARQUES, T. R. et al. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of lyophilized extract of acerola bagasse against CCl₄-induced hepatotoxicity in Wistar rats. **Journal of Food Biochemistry**, v. 42, n. 6, p. 1–9, 2018.
- MARTINS, C. M. et al. Industrial relevance of *Tamarindus indica* L. by-products as source of valuable active metabolites. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 66, n. September, p. 102518, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102518>>.
- MASUKO, T. et al. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. **Analytical Biochemistry**, v. 339, n. 1, p. 69–72, 2005.
- MAZZUTTI, S. et al. Intensified aqueous-based processes to obtain bioactive extracts from *Plantago*

- major and *Plantago lanceolata*. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 64–71, 2017a.
- MAZZUTTI, S. et al. Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 211–220, 2017b.
- MAZZUTTI, S. et al. Integrated green-based processes using supercritical CO₂ and pressurized ethanol applied to recover antioxidant compounds from cocoa (*Theobroma cacao*) bean hulls. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, n. December 2017, p. 52–59, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.12.039>>.
- MCGRATH, J. R.; BECK, M.; JR, M. E. H. Journal of Archaeological Science : Reports Replicating Red : Analysis of ceramic slip color with CIELAB color data. **Journal of Archaeological Science: Reports**, v. 14, p. 432–438, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jasrep.2017.06.020>>.
- MEIRELES, M. A. A. Extraction of Bioactive Compounds from Latin American Plants. In: **Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds**. [s.l: s.n.]p. 243–262.
- MENA-GARCÍA, A. et al. Green techniques for extraction of bioactive carbohydrates. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 119, p. 115612, 2019.
- MENDES, F. R. S. et al. Preparation and evaluation of hemicellulose films and their blends. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 181–190, set. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.037>>.
- MENEZES, A. P. P. et al. *Tamarindus indica* L. A plant with multiple medicinal purposes. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 5, n. 3, p. 50–54, 2016.
- MICHELIN, E. M. Z. et al. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: Comparing SFE and organic solvents extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, n. 2, p. 131–138, 2005.
- MISHRA, A. Tamarind seed xyloglucan: A food hydrocolloid for water remediation. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 7, n. 1, p. 12–18, 2013.
- MISHRA, A.; MALHOTRA, A. V. Tamarind xyloglucan: A polysaccharide with versatile application potential. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 45, p. 8528–8536, 2009.
- MISHRA, A.; MALHOTRA, A. V. Graft copolymers of xyloglucan and methyl methacrylate. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 3, p. 1899–1904, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.068>>.
- MOHAMED, H.; MOHAMED, B.; AHMED, K. Physicochemical Properties of Tamarind (*Tamarindus indica*) Seed Polysaccharides. **Journal of Food Processing & Technology**, v. 06, n. 06, p. 6–10, 2015.
- MOHAN, M.; BANERJEE, T.; GOUD, V. V. Hydrolysis of bamboo biomass by subcritical water treatment. **Bioresource Technology**, v. 191, p. 244–252, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.010>>.
- MUNIR, M. T. et al. Subcritical water extraction of bioactive compounds from waste onion skin. **Journal of Cleaner Production**, v. 183, p. 487–494, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.02.166>>.

MUÑOZ-GONZÁLEZ, C. et al. Recovery of Aromatic Aglycones from Grape Pomace Winemaking By-Products by Using Liquid-Liquid and Pressurized-Liquid Extraction. **Food Analytical Methods**, v. 7, n. 1, p. 47–57, 2014.

MUÑOZ-LABRADOR, A.; PRODANOV, M.; VILLAMIEL, M. Effects of high intensity ultrasound on disaggregation of a macromolecular procyanidin-rich fraction from *Vitis vinifera* L. seed extract and evaluation of its antioxidant activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, p. 74–81, 2019.

MURTHY, K. N. C. et al. Differential inhibition of human colon cancer cells by structurally similar flavonoids of citrus. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 27–34, maio 2012.

MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica chimica acta**, v. 703, n. 1, p. 8–18, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21843670>>.

NAKCHAT, O.; MEKSURIYEN, D.; PONGSAMART, S. Antioxidant and anti-lipid peroxidation activities of *Tamarindus indica* seed coat in human fibroblast cells. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 52, p. 125–132, 2014.

NARAYANASWAMY, R.; ISMAIL, I. S. Cosmetic potential of Southeast Asian herbs: an overview. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, n. 3, p. 419–428, 2015.

NAYAK, A. K.; PAL, D.; SANTRA, K. Screening of polysaccharides from tamarind, fenugreek and jackfruit seeds as pharmaceutical excipients. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 1–5, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.018>>.

NEHME, C. J. et al. Intraspecific variability of flavonoid glycosides and styrylpyrones from leaves of *Cryptocarya mandiocana* Meisner (Lauraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, n. 8, p. 602–611, 2008.

NETO, R. T. et al. Biorefinery of high polymerization degree proanthocyanidins in the context of circular economy. **Industrial Crops and Products**, v. 151, n. March, p. 112450, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112450>>.

NGUYEN, T. T.; JITTANIT, W.; SRICHAMNONG, W. Production of xyloglucan component extracted from tamarind (*Tamarindus indica*) seeds using microwave treatment for seed decortication. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 8, p. 1–14, 2019.

NIE, W.; DETERS, A. M. Tamarind seed xyloglucans promote proliferation and migration of human skin cells through internalization via stimulation of proproliferative signal transduction pathways. **Dermatology Research and Practice**, v. 2013, 2013.

O'FALLON, J. V. et al. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 6, p. 1511–1521, 2007.

OKELLO, J. et al. Mineral composition of *Tamarindus indica* LINN (tamarind) pulp and seeds from different agro- - ecological zones of Uganda. **Food Science & Nutrition**, v. 5, p. 959–966, 2017.

OKELLO, J. et al. Physicochemical composition of *Tamarindus indica* L . (Tamarind) Fruits in the

- agro-- ecological zones of Uganda. **Food Science & Nutrition**, v. 6, p. 1179–1189, 2018.
- OKOH, O. O. et al. Ethanol extract and chromatographic fractions of *Tamarindus indica* stem bark inhibits newcastle disease virus replication. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 1806–1808, 2017.
- OLAGUNJU, O. F. et al. Effects of fermentation on proximate composition , mineral profile and antinutrients of tamarind (*Tamarindus indica* L .) seed in the production of daddawa-type condiment. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, p. 455–459, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.064>>.
- OLUSEYI, E. O.; TEMITAYO, O. M. Chemical and functional properties of fermented , roasted and germinated tamarind (*Tamarindus indica*) seed flours. **Nutrition & Food Science**, v. 45, n. 1, p. 97–111, 2015.
- PARFITT, J.; BARTHEL, M.; MACNAUGHTON, S. Food waste within food supply chains: Quantification and potential for change to 2050. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 365, n. 1554, p. 3065–3081, 2010.
- PATEL, J. ; DEVI, G. . Variations in chloroplasts of leaf mesophyll of *Syzygium cumini* L. and *Tamarindus indica* L. growing under air pollution stress of a fertilizer complex. **Indian Journal of Ecology**, v. 13, p. 1–4, 1986.
- PATIL, S. V.; JUDGE, D. R. Tamarind Gum: A Pharmaceutical Overview. **Pharmaceutical Reviews**, v. 6, n. January 2008, 2008.
- PELLEGRINI, N. et al. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 9, p. 2812–2819, 2003.
- PEREIRA, C. de S. S.; VIEIRA, G. L.; MENDES, M. F. Avaliação de diferentes tecnologias na extração do óleo de Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L). **Revista Ciência da Vida**, p. 61–74, 2011.
- PEREIRA, C. G.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds : Fundamentals , Applications and Economic Perspectives. **Food Bioprocess Technol**, v. 3, p. 340–372, 2010.
- PERIASAMY, S. et al. Tamarind xyloglucan attenuates dextran sodium sulfate induced ulcerative colitis: Role of antioxidation. **Journal of Functional Foods**, v. 42, n. January, p. 327–338, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.01.014>>.
- PICOUT, D. R. et al. Pressure cell assisted solubilization of xyloglucans: Tamarind seed polysaccharide and detarium gum. **Biomacromolecules**, v. 4, n. 3, p. 799–807, 2003.
- PLAZA, M. et al. Facts about the formation of new antioxidants in natural samples after subcritical water extraction. **Food Research International**, v. 43, n. 10, p. 2341–2348, 2010a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.036>>.
- PLAZA, M. et al. Neof ormation of antioxidants in glycation model systems treated under subcritical water extraction conditions. **Food Research International**, v. 43, n. 4, p. 1123–1129, 2010b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.005>>.

- PLAZA, M.; LUISA, M. Pressurized hot water extraction of bioactives. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 236–247, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.024>>.
- POURALI, O.; ASGHARI, F. S.; YOSHIDA, H. Sub-critical water treatment of rice bran to produce valuable materials. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 1–7, jul. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608014349>>.
- PRABHU, K. H.; TELI, M. D. Eco-dyeing using Tamarindus indica L . seed coat tannin as a natural mordant for textiles with antibacterial activity. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n. 6, p. 864–872, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2011.10.014>>.
- PRAKASH, M.; BASAVARAJ, B. V.; CHIDAMBARA MURTHY, K. N. Biological functions of epicatechin: Plant cell to human cell health. **Journal of Functional Foods**, v. 52, p. 14–24, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.021>>.
- PRAKASH, O.; BASKARAN, R.; KUDACHIKAR, V. B. Characterization, quantification of free, esterified and bound phenolics in Kainth (Pyrus pashia Buch.-Ham. Ex D.Don) fruit pulp by UPLC-ESI-HRMS/MS and evaluation of their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 299, p. 125114, nov. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619312208>>.
- PRIYADARSHINI, R. et al. Gastroretentive extended release of metformin from methacrylamide-g-gellan and tamarind seed gum composite matrix. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 100–110, 2016.
- PRONYK, C.; MAZZA, G. Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 215–226, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.06.002>>.
- QUEIROZ, J. L. C. de et al. Chitosan-whey protein nanoparticles improve encapsulation efficiency and stability of a trypsin inhibitor isolated from Tamarindus indica L. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p. 247–256, nov. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.010>>.
- RAO, Y. S.; MATHEW, K. M. Tamarind. In: **Handbook of Herbs and Spices**. [s.l.] Elsevier, 2012. 2p. 512–533.
- RAVBER, M.; KNEZ, Ž.; ŠKERGET, M. Simultaneous extraction of oil- and water-soluble phase from sunflower seeds with subcritical water. **Food Chemistry**, v. 166, p. 316–323, 2015.
- RAZALI, N. et al. Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of Tamarindus indica L. **Food Chemistry**, v. 131, n. 2, p. 441–448, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.001>>.
- RAZALI, N. et al. Polyphenols from the extract and fraction of T. indica seeds protected HepG2 cells against oxidative stress. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, p. 438, 18 dez. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12906-015-0963-2>>.
- RAZAVI, S. M. A. et al. Some physicochemical properties of sage (Salvia macrosiphon) seedgum. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 453–462, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.022>>.
- RE, R. et al. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay.

Free Radical Biology & Medicine, v. 26, n. 9, p. 1231–1237, 1999.

REIS, P. M. C. L. et al. Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 116–123, 2016.

REKSHMYD'DHARAN, S.; ROY, A. Epicatechin-nature's extraordinary therapeutic agent: A review. **International Journal of PharmTech Research**, v. 5, n. 4, p. 1816–1822, 2013.

RODRIGUES, D. C. et al. Emulsion films from tamarind kernel xyloglucan and sesame seed oil by different emulsification techniques. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 270–276, 2018.

RODRIGUES, L. G. G. et al. Recovery of bioactive phenolic compounds from papaya seeds agroindustrial residue using subcritical water extraction. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, n. September, p. 101367, 2019.

RODRIGUES, L. G. G. et al. Subcritical water extraction and microwave-assisted extraction applied for the recovery of bioactive components from Chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* Mill.). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 165, p. 104976, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2020.104976>>.

RODRÍGUEZ-CABO, T. et al. Assessment of alcoholic distillates for the extraction of bioactive polyphenols from grapevine canes. **Industrial Crops and Products**, v. 111, n. June 2017, p. 99–106, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.011>>.

RODRÍGUEZ-SOLANA, R. et al. Characterization of fennel extracts and quantification of estragole: Optimization and comparison of accelerated solvent extraction and Soxhlet techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 528–536, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.028>>.

RUDKE, A. R. et al. Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. **Food Chemistry**, v. 298, n. May, p. 125061, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125061>>.

RUIZ-RODRIGUEZ, A.; REGLERO, G.; IBANÑEZ, E. Recent trends in the advanced analysis of bioactive fatty acids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, n. 2, p. 305–326, 2010.

SAHLE, F. F. et al. Skin Diseases Associated with the Depletion of Stratum Corneum Lipids and Stratum Corneum Lipid Substitution Therapy. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 28, n. 1, p. 42–55, 2015. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/360009>>.

SAMAL, P. K.; DANGI, J. S. Isolation , preliminary characterization and hepatoprotective activity of polysaccharides from *Tamarindus indica* L . **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 1–7, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.059>>.

SANG, J. et al. Combination of a deep eutectic solvent and macroporous resin for green recovery of anthocyanins from *Nitraria tangutorun* Bobr. fruit. **Separation Science and Technology**, v. 54, n. 18, p. 3082–3090, 12 dez. 2019. Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/01496395.2018.1559190>>.

SANTOS, N. L. et al. Preparation and characterization of Xyloglucan films extracted from *Tamarindus indica* seeds for packaging cut-up ‘Sunrise Solo’ papaya. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1163–1175, 2019a. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.044>>.

SANTOS, P. H. et al. Extraction of bioactive compounds from feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) peel by low and high-pressure techniques. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, n. October 2018, p. 219–227, 2019b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.12.016>>.

SANTOS, P. H. et al. Antioxidant and antibacterial compounds from feijoa leaf extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **Food Chemistry**, v. 344, n. October 2020, p. 128620, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128620>>.

SANTOS, T. R. J.; SANTANA, L. C. L. de A. Antimicrobial potential of exotic fruits residues. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 338–344, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.031>>.

SAQIB, N. U. et al. Valorisation of food waste via hydrothermal carbonisation and techno-economic feasibility assessment. **Science of the Total Environment**, v. 690, p. 261–276, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.484>>.

SARAVANA, P. S. et al. Green and efficient extraction of polysaccharides from brown seaweed by adding deep eutectic solvent in subcritical water hydrolysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 198, p. 1474–1484, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.151>>.

SARKAR, A.; GHOSH, U. Classical Single Factor Optimisation of Parameters for Phenolic Antioxidant Extraction from Tamarind Seed (*Tamarindus indica*). **Plant Science Today**, v. 3, n. 3, p. 258–266, 2016.

SARKAR, A.; GHOSH, U. Optimization of the extraction of natural phenolic antioxidants from the seeds of *Tamarindus indica* L. - An undervalued by product of food processing - Using response surface methodology. **Acta Biologica Szegediensis**, v. 62, n. 1, p. 67–74, 2018.

SAVUR, G. R.; SREENIVASAN, A. Isolation and Characterization of Tamarind seed (*Tamarindus indica* L.) polysaccharide. **Journal of Biological Chemistry**, v. 172, p. 501–509, 1948.

SHANKARACHARYA, N. B. Tamarind: Chemistry, technology and uses: A critical appraisal. **Journal of Food Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 193–208, 1998.

SHAO, H. et al. Composition and rheological properties of polysaccharide extracted from tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed. **Molecules**, v. 24, n. 7, 2019.

SHARIF, K. M. et al. Experimental design of supercritical fluid extraction - A review. **Journal of Food Engineering**, v. 124, p. 105–116, 2014. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.10.003>>.

SHARMA, R. et al. Physicochemical and functional performance of pectin extracted by QbD approach from *Tamarindus indica* L. pulp. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 364–374, 2015.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.073>>.

SHIRISHA, R.; VARALAKSHMI, K. N. Tamarindus indica Bark Extract and a Bioactive Fraction Induce Apoptosis in HeLa and PA-1 Cells. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 78, n. 6, p. 725–731, 2016.

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

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.10.025>>.

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

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.013>>.

SINCHAIYAKIT, P. et al. Tannins of Tamarind Seed Husk : Preparation , Structural Characterization, and Antioxidant Activities. **Natural Product Communications**, v. 6, n. January 2016, p. 829–834, 2011.

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

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.006>>.

SIVAKUMAR, N.; KARUPPAIYAN, K. Extraction and characterization of water-soluble polysaccharides from Tamarindus indica and Pithecellobium dulce seeds. **Journal of Food Process Engineering**, v. 43, n. 3, p. 1–17, 2020.

SOBEH, M. et al. Tannin-rich extracts from *Lannea stuhlmannii* and *Lannea humilis* (Anacardiaceae) exhibit hepatoprotective activities in vivo via enhancement of the anti-apoptotic protein Bcl-2.

Scientific Reports, v. 8, n. 1, p. 9343, 19 dez. 2018. Disponível em:

<<http://www.nature.com/articles/s41598-018-27452-8>>.

SOLE, S. S.; SRINIVASAN, B. P.; AKARTE, A. S. Anti-inflammatory action of Tamarind seeds reduces hyperglycemic excursion by repressing pancreatic β -cell damage and normalizing SREBP-1c concentration. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n. 3, p. 350–360, 2013.

SONI, N.; SINGH, V. K.; SINGH, D. K. HPLC characterization of molluscicidal component of Tamarindus indica and its mode of action on nervous tissue of *Lymnaea acuminata*. **Journal of Ayurveda and Integrative Medicine**, p. 1–11, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.09.002>>.

SORADECH, S. et al. Development of wax-incorporated emulsion gel beads for the encapsulation and intragastric floating delivery of the active antioxidant from Tamarindus indica L. **Molecules**, v. 21, n. 380, p. 1–13, 2016.

SOUZA, C. M. et al. Lambs fed cassava silage with added tamarind residue : Silage quality , intake , digestibility , nitrogen balance , growth performance and carcass quality. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, p. 50–59, 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.11.007>>.

- SOVOVÁ, H. RATE OF THE VEGETABLE OIL EXTRACTION WITH SUPERCRITICAL CO₂--I. MODELLING OF EXTRACTION CURVES. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p. 409–414, 1994.
- STAŠKO, A. et al. The potential pitfalls of using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl to characterize antioxidants in mixed water solvents. **Free Radical Research**, v. 41, n. 4, p. 379–390, 2007.
- SU, L. et al. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 990–997, 2007.
- SUDJAROEN, Y. et al. Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 1673–1682, 2005.
- SUKSOMTIP, M.; PONGSAMART, S. Protective effect against oxidation of human low-density lipoprotein and plasmid DNA strand scission of Tamarind seed coat extract in vitro. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 2002–2007, 2008.
- SUMNER, L. W. et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis. **Metabolomics**, v. 3, n. 3, p. 211–221, 19 set. 2007. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11306-007-0082-2>>.
- SUN, Y.; YANG, C.; TSAO, R. Nomenclature and general classification of antioxidant activity/capacity assays. In: APAK, R.; CAPANOGLU, E.; SHAHIDI, F. (Ed.). **Measurement of Antioxidant Activity & Capacity Recent trends and applications**. [s.l.] Functional Food Science and Technology, 2018. p. 1–15.
- SUNDARAM, M. S. et al. Tamarind Seed (*Tamarindus indica*) Extract Ameliorates Adjuvant-Induced Arthritis via Regulating the Mediators of Cartilage/Bone Degeneration, Inflammation and Oxidative Stress. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 11117, 10 set. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep11117>>.
- SUNPHORKA, S. et al. Kinetic studies on rice bran protein hydrolysis in subcritical water. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 65, p. 54–60, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2012.02.017>>.
- SUTRISNA, E. M. et al. Hypolipidemic effect of *Tamarindus indica* L fruit on Triton X-100-induced hyperlipidemia in Wistar rats. **National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 4, p. 285–290, 2015.
- SUTRISNO et al. Fatty acids in *Tamarindus indica* L. seeds oil and antibacterial activity assay. **Key Engineering Materials**, v. 811 KEM, p. 40–46, 2019.
- SUTRISNO; RETNOSARI, R.; MARFU'AH, S. Study of antibacterial activity of *Tamarindus indica* Linn seed oil and its fatty acids. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 299, n. 1, 2019.
- ŠVARC-GAJIĆ, J. et al. Functional coffee substitute prepared from ginger by subcritical water.

Journal of Supercritical Fluids, v. 128, n. May, p. 32–38, 2017.

SZYMANSKA-CHARGOT, M.; ZDUNEK, A. Use of FT-IR Spectra and PCA to the Bulk Characterization of Cell Wall Residues of Fruits and Vegetables Along a Fraction Process. **Food Biophysics**, v. 8, n. 1, p. 29–42, 2013.

TEO, C. C. et al. Pressurized hot water extraction (PHWE). **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2484–2494, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.050>>.

TEO, H. L.; WAHAB, R. A. Towards an eco-friendly deconstruction of agro-industrial biomass and preparation of renewable cellulose nanomaterials: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 1414–1430, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.076>>.

THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6–7, p. 669–675, 2006.

TIMILSENA, Y. P. et al. Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 128–136, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035>>.

TOUNGOS, M. D. Tamarind (*Tamarindus indicus* L) Fruit of Potential Value But Underutilized in Nigeria. **International Journal of Innovative Food, Nutrition & Sustainable Agriculture**, n. January, 2019.

VILLELA, L. Z.; MEIRELES, M. Â. A.; MENDES, L. F. Biorrefinaria holística de conversão de biomassas por tecnologias sub e supercríticas em produtos para a Nova Bioeconomia Mundial. **Revista Fitos**, p. 90–96, 2018.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159–178, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>>.

WANG, M. et al. Ball mill assisted rapid mechanochemical extraction method for natural products from plants. **Journal of Chromatography A**, v. 1449, p. 8–16, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2016.04.044>>.

WAQAS, M. K. et al. Stability Study of a Cosmetic Emulsion Loaded with *Tamarindus indica* Seeds Extract. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 33, n. 5, p. 731–738, 2014.

WAQAS, M. K. et al. Skin lightening and sebum control efficacy of a cosmetic emulsion containing extract of tamarind seeds on Asian skin type. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 34, n. 3, p. 570–575, 2015.

WIANOWSKA, D.; GIL, M. Critical approach to PLE technique application in the analysis of secondary metabolites in plants. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 114, p. 1–33, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.018>>.

- XI, J.; LUO, S. Pressure-enhanced solid-liquid extraction of rutin from Chinese scholar-tree flower: Kinetic modeling of influential factors. **Separation and Purification Technology**, v. 156, p. 809–816, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2015.11.006>>.
- XU, G. et al. Structural characterization of lignin and its carbohydrate complexes isolated from bamboo (*Dendrocalamus sinicus*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 376–384, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.234>>.
- YANG, B. et al. High-pressure ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Hovenia dulcis*: Extraction, structure, antioxidant activity and hypoglycemic. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 137, p. 676–687, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.034>>.
- YARLEY, O. P. N. et al. Reviews on mechanisms of in vitro antioxidant, antibacterial and anticancer activities of water-soluble plant polysaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, n. May, p. 2262–2271, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.181>>.
- YU, C.; DAVIS, C.; DIJKEMA, G. P. J. Understanding the evolution of industrial symbiosis research: A bibliometric and network analysis (1997-2012). **Journal of Industrial Ecology**, v. 18, n. 2, p. 280–293, 2014.
- ZABANIOTOU, A.; KAMATEROU, P. Food waste valorization advocating Circular Bioeconomy - A critical review of potentialities and perspectives of spent coffee grounds biorefinery. **Journal of Cleaner Production**, v. 211, p. 1553–1566, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.230>>.
- ZHANG, J. et al. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 95, n. May 2019, p. 183–195, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.11.018>>.
- ZHAO, S.; ZHANG, D. Supercritical CO₂ extraction of Eucalyptus leaves oil and comparison with Soxhlet extraction and hydro-distillation methods. **Separation and Purification Technology**, v. 133, p. 443–451, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2014.07.018>>.
- ZIELINSKI, A. A. F. et al. A comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. **Food Research International**, v. 60, p. 246–254, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.010>>.
- ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; BETA, T. Multi-response optimization of phenolic antioxidants from white tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) and their identification by LC-DAD-Q-TOF-MS/MS. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 897–907, 2016.
- ZIELINSKI, F. et al. High-pressure fluid technologies : Recent approaches to the production of natural pigments for food and pharmaceutical applications. **Trends in Food Science & Technology**, v. 118, p. 850–869, 2021.

ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **Polymer Testing**, v. 23, n. 5, p. 575–579, 2004.

APÊNDICE A – ARTIGOS PUBLICADOS

A.I- Revisão referente a valorização dos subprodutos de tamarindo (Apresentado no Capítulo 2)



Industrial relevance of *Tamarindus indica* L. by-products as source of valuable active metabolites

Camila Mota Martins^{a,b}, Diego Márlon Ferro^a, Edy Sousa de Brito^b, Sandra Regina Salvador Ferreira^{a,*}

^a Chemical and Food Engineering Department, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, CEP. 476, 88040-900, Brazil
^b Empresa Agroindústria Tropical, R Dra Sara Mesquita, 2270, Pici, Fortaleza, CE, CEP. 60511 110, Brazil

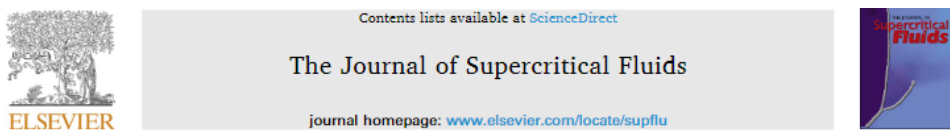
ARTICLE INFO

Keywords
 Tamarind
 Bioactive compounds
 Non-conventional extractions
 Biotechnological application
 Biorefinery concept

ABSTRACT

Tamarind (*Tamarindus indica* L.) pulp is highly consumed due to the appreciable sensorial attributes. However, the fruit processing generates from 50 to 70% of residue, corresponding to peel, fiber, and seeds; a biomass still unexplored and usually discarded in the environment. In this perspective, the present review highlights and summarizes the current literature data about the main bioactive compounds associated to by-products from tamarind processing. Then, to balance the lack of information on these residues, an overview on extraction methods is also presented, linked to the recovery of relevant compounds from these residues and possible applications for the resulting products. Phenolic compounds, fatty acids, and polysaccharides are the main classes of substances from tamarind by-products, which, when processed, are submitted to traditional extraction methods (Soxhlet and maceration). To spread the environmental appeal of these residues as viable biomass, non-traditional extraction methods, still underused for tamarind by-products, are valued. These methods are interesting alternatives to obtain valuable compounds adequate for functional foods, packaging formulations, medicines, and cosmetics.

A.II – Artigo referente a PARTE I do Capítulo 3 (Valorização da semente de tamarindo)



Valorization of tamarind seeds using high-pressure extraction methods to obtain rich fractions in fatty acid and phenolic compounds

Camila Mota Martins^a, Jhonyson Arruda Carvalho Guedes^b, Edy Sousa de Brito^b, Sandra Regina Salvador Ferreira^{a,*}

^a Department of Chemical and Food Engineering, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC 88040-900, Brazil
^b Empresa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE 60511-110, Brazil

HIGHLIGHTS

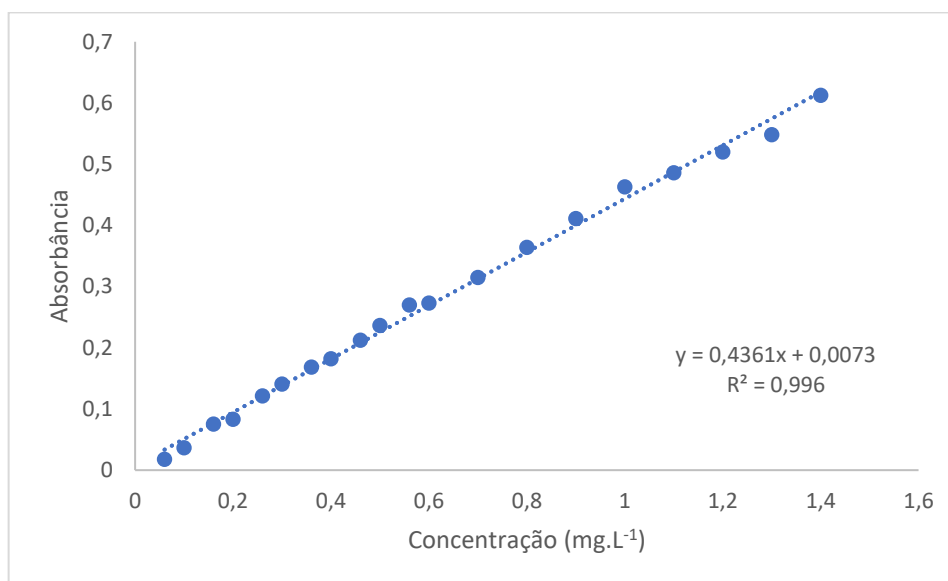
- Fractions rich in different bioactive compounds were obtained from tamarind seeds.
- The solvent type had strong influence on the selectivity of the recovered compounds.
- Linoleic, oleic, and stearic acids were the main fatty acids from lipid fraction.
- The phenolic fraction contains organic acids, procyanidins, rutin and orientin.
- The integration of SFE and PLE processes increased the antioxidant potential of the recovered fraction.

GRAPHICAL ABSTRACT



APÊNDICE B - CURVA ANALÍTICA DE ÁCIDO GÁLICO

Figura B.I – Curva analítica de ácido gálico utilizada na determinação do conteúdo de compostos fenólicos totais dos extratos de semente (Capítulo 4) e casca (Capítulo 5) de tamarindo.



APÊNDICE C - CURVA ANALÍTICA DE TROLOX

Figura C.I – Curva analítica de Trolox utilizada na determinação da capacidade antioxidante, dos extratos de semente (Capítulo 4) e casca (Capítulo 5) de tamarindo, por meio do ensaio de DPPH.

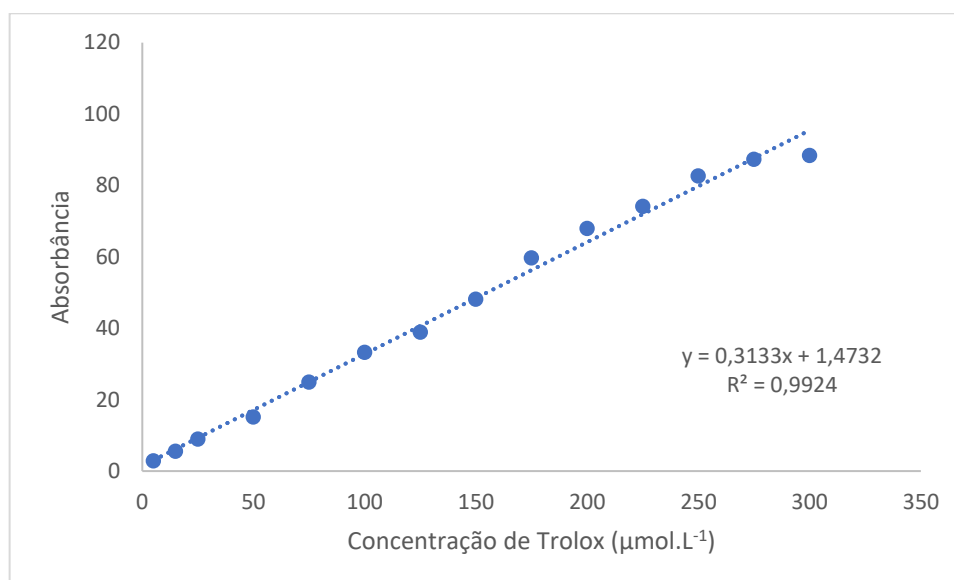


Figura C.II – Curva analítica de Trolox utilizada na determinação da capacidade antioxidante, dos extratos de semente (Capítulo 4) e casca (Capítulo 5) de tamarindo, por meio do ensaio de ABTS.

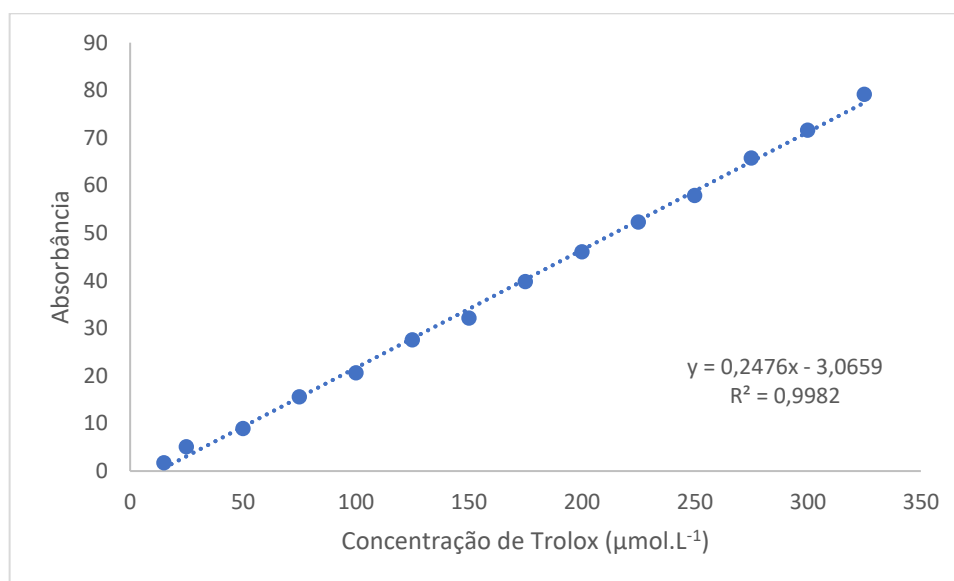
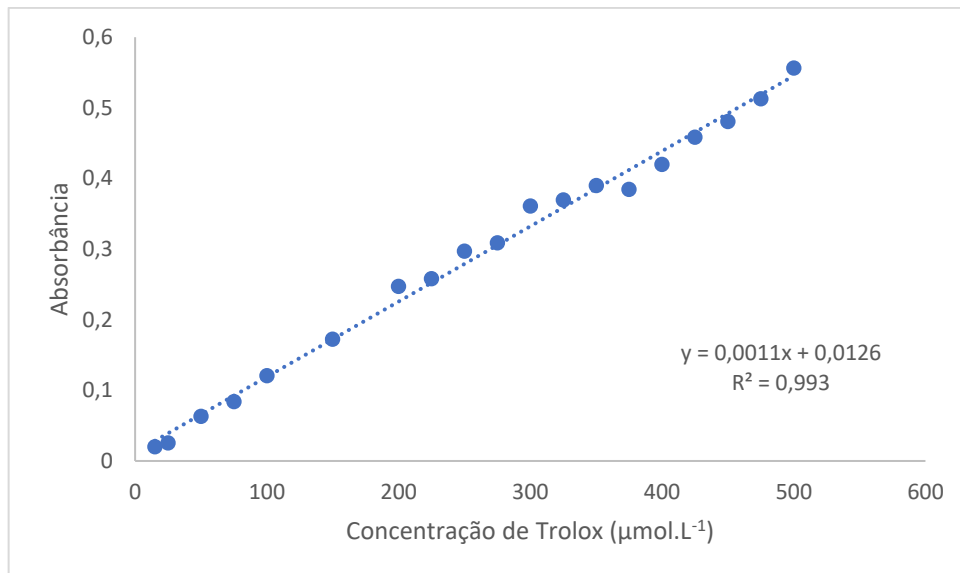
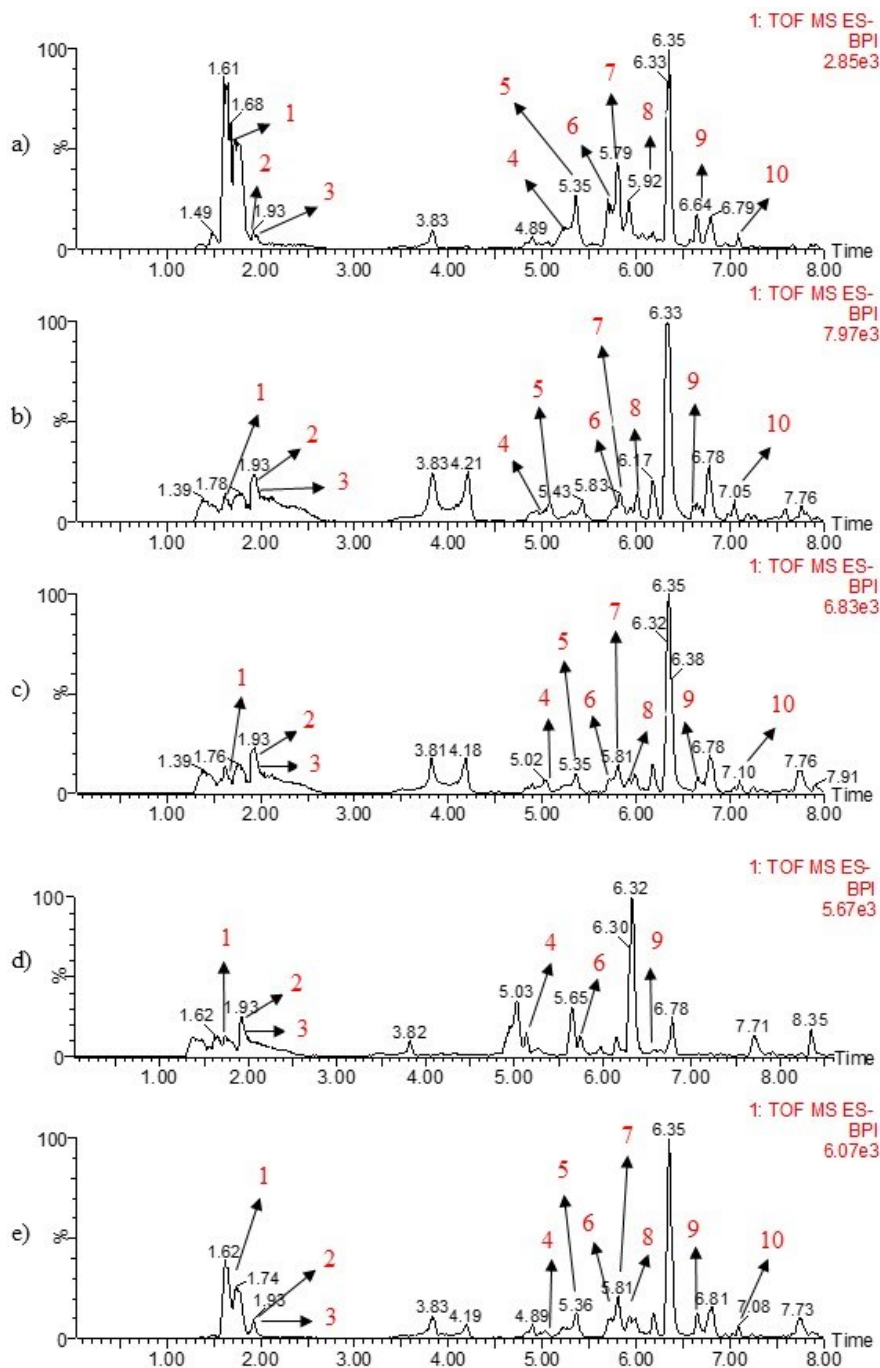


Figura C.III – Curva analítica de Trolox utilizada na determinação da capacidade antioxidante, dos extratos de semente (Capítulo 4) e casca (Capítulo 5) de tamarindo, por meio do ensaio de FRAP.



APÊNDICE D – CROMATOGRAMAS UPLC-QTOF-MS

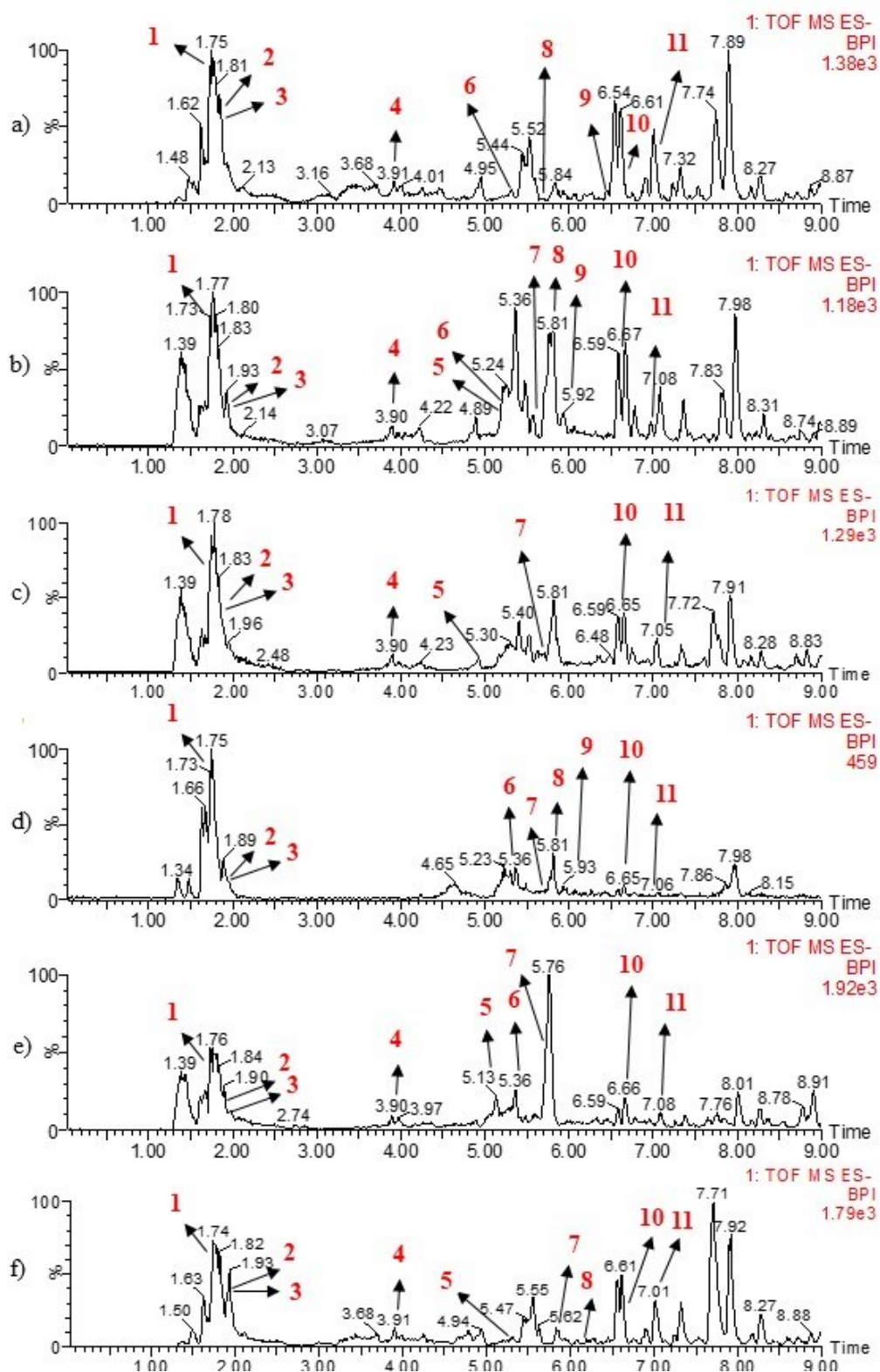
Figura D.I- Cromatogramas dos metabólitos anotados nos extratos de semente de tamarindo e analisados em UPLC-QTOF-MS em modo de ionização negativa ($[MH]^-$).



PLE-etanol / 60 °C (a), PLE-etanol 50% / 80 °C (b), PLE-água / 80 °C (c), SWE / 150 °C (d) e SOX-etanol (e).

Legenda dos picos: ácido tartárico (1), ácido málico (2), ácido cítrico (3), catequina (4), dímero de procianidina do tipo B (5), epicatequina (6), trímero de procianidina do tipo B (7), tetrâmero de procianidina do tipo B (8), Rutina (9), Orientina (10).

Figura D.II- Cromatogramas dos metabólitos anotados nos extratos de casca de tamarindo e analisados em UPLC-QTOF-MS em modo de ionização negativa ([MH]⁻).



PLE-ethanol /100 °C (a); PLE-ethanol 50% / 100 °C (b); SWE /130°C (c); MAE-ethanol 50% / 100 °C (d); MAE-água /130 °C (e) e SOX-ethanol (f);

Legenda dos picos: ácido tartárico (1), ácido málico (2), ácido cítrico (3), ácido vanílico (4), catequina (5), dímero de procianidina do tipo B (6), epicatequina (7), trímero de procianidina do tipo B (8), tetrâmero de procianidina do tipo B (9), Rutina (10), Orientina (11).

APÊNDICE E - CURVAS ANALÍTICAS DE GLICOSE E ÁCIDO D-GALACTURÔNICO

Figura E.I – Curva analítica de glicose utilizada na quantificação de carboidratos totais, dos extratos aquosos da semente de tamarindo (Capítulo 3-PARTE II), por meio do método de ácido fenol-sulfúrico.

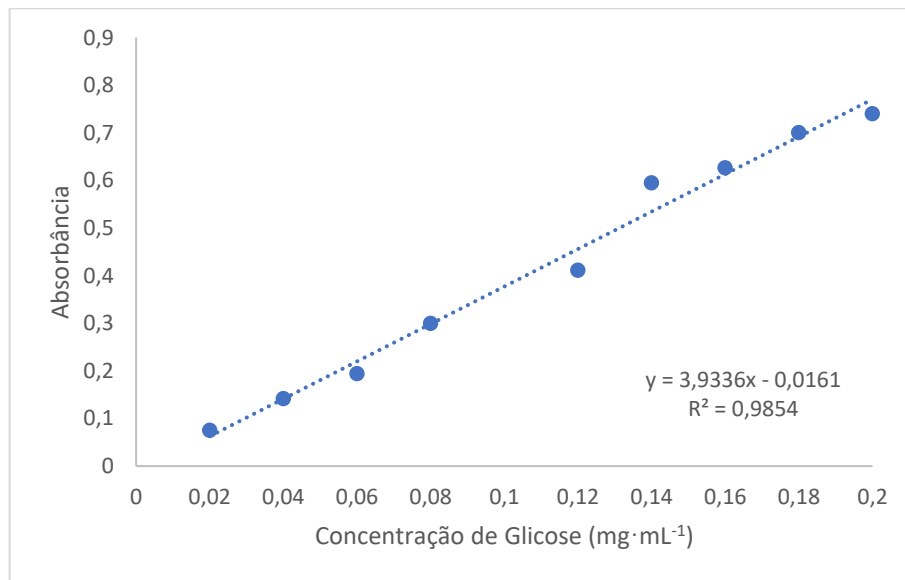


Figura E.II – Curva analítica de ácido D-galacturônico utilizada na quantificação de ácido urônico, nos extratos aquosos da semente de tamarindo (Capítulo 3-PARTE II).

