

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA (PEQ- UFS)

FERNANDA MASLOVA SOARES ALVES

EXTRAÇÃO DE ÓLEO DA PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolius Raddi*):  
COMPOSTOS BIOATIVOS, CINÉTICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

São Cristóvão - SE

2018

FERNANDA MASLOVA SOARES ALVES

EXTRAÇÃO DE ÓLEO DA PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolius Raddi*):  
COMPOSTOS BIOATIVOS, CINÉTICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Engenharia Química,  
como requisito parcial à obtenção do título  
de Mestre em Engenharia Química.

Orientador: Dr. Edilson de Jesus Santos

São Cristóvão – SE

2018

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

A474e Alves, Fernanda Maslova Soares  
Extração de óleo da pimenta rosa (*schinus terebinthifolius raddi*)  
: composto bioativos, cinética e atividade antioxidante / Fernanda  
Maslova Soares Alves ; orientador Edilson de Jesus Santos. – São  
Cristóvão, 2018.  
73 f.

Dissertação (mestrado em Engenharia Química) – Universidade  
Federal de Sergipe, 2018.

1. Engenharia química. 2. Extração (Química). 3. Antioxidantes.  
I. Santos, Edilson de Jesus, orient. II. Título.

CDU 66.061.35

FERNANDA MASLOVA SOARES ALVES

EXTRAÇÃO DE ÓLEO DA PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolius Raddi*):  
COMPOSTOS BIOATIVOS, CINÉTICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Sergipe em 26 de Setembro de 2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Dr. Edilson de Jesus Santos – Orientador  
Universidade Federal de Sergipe (UFS)

---

Dr (a). Cristina Ferraz Silva - Banca examinadora interna  
Universidade Federal de Sergipe (UFS)

---

Dr. Jefferson Arlen Freitas - Banca examinadora externa  
Universidade Federal de Sergipe (UFS)

Dedico esse trabalho a todos os meus amigos e familiares que sempre me incentivaram e apoiaram durante essa jornada. Em especial aos meus pais, Francinaldo e Lourdes, pelo carinho e amor incondicional.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por estar sempre presente na minha vida, abençoando, guardando e iluminando a mim e a toda minha família.

Aos meus pais que foram fundamentais na minha formação pessoal e profissional. Sem o apoio, o carinho, a dedicação e o amor que sempre me deram eu não seria o que sou hoje.

Aos meus familiares, pelo incentivo e carinho depositados em mim.

Ao Professor Dr. Edilson de Jesus, pela oportunidade e orientação ao longo de todo o trabalho.

Ao Professor Dr. Lúcio Cardozo Filho, pela oportunidade de realizar as extrações com fluidos supercríticos e líquido pressurizado no Laboratório de Nanotecnologia e Tecnologia Supercrítica (LNTS) da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Sergipe (UFS), por ter permitido a realização deste trabalho.

À CAPES, pelo financiamento deste trabalho através da concessão da bolsa de estudos.

A todos que compõem o Laboratório de Química Industrial (LQI) da UFS, pelo apoio técnico-científico e pelos momentos de descontração.

Aos meus amigos, Dayene, Schiliene, Renata, Vanessa, Tiago, Maicon, que compartilharam comigo momentos de alegria, desespero e dificuldades ao longo desses dois anos. Em especial, à Dayene, pela amizade e a ajuda na realização das análises.

*“... Se chorei ou se sorri, o importante é que emoções eu vivi”*

(Roberto Carlos)

## RESUMO

A pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*) vem chamando atenção de produtores e consumidores do nordeste do Brasil por oferecer benefícios à saúde devido a seus compostos. Assim sendo, a atividade antioxidante e cinética de extração do óleo de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*) foram avaliadas neste trabalho. Foram realizadas extrações com CO<sub>2</sub> supercrítico puro (SFE/CO<sub>2</sub>), CO<sub>2</sub> supercrítico com isopropanol (SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O) e por Soxhlet (ES) utilizando os solventes metanol, etanol e hexano. No processo de extração com fluido supercrítico foi utilizado planejamento experimental fatorial 2<sup>3</sup> com tréplica no ponto central, sob condições do processo, temperaturas de 20, 40 e 60°C, pressões de 15, 20 e 25 MPa e vazão de solvente de 2, 3 e 4 mL min<sup>-1</sup> para a SFE/CO<sub>2</sub>, concentração de isopropanol de 2, 4 e 6% e vazão de solvente fixada em 4 mL min<sup>-1</sup> para a SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. A cinética de extração foi avaliada nas condições de 20 MPa/40°C/3 mL min<sup>-1</sup> para SFE/CO<sub>2</sub> e 20 MPa/40°C/4% para SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. Foram usados os modelos de Tan e Liou, de Esquível e de Martínez para ajuste da curva cinética. O modelo de Martínez foi o que melhor se ajustou à curva cinética, que resultou em menor erro médio relativo (E<sub>m</sub>). Dentre as formas de extração, a que obteve melhores resultados foi extração por Soxhlet utilizando o metanol como solvente, com rendimento global do óleo (28,62%). Os melhores resultados da atividade antioxidante foram: pelo método DPPH (125,82, 452,30 e 408,68 µg mL<sup>-1</sup>), ABTS (68,25, 35,53 e 28,82 µMTEAC g<sup>-1</sup> de óleo), compostos fenólicos (1424,85, 143,26 e 268,67 mgGAE 100g<sup>-1</sup> de óleo) que foram obtidas nas amostras de óleo na extração por Soxhlet usando o solvente metanol, CO<sub>2</sub> supercrítico puro e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. A composição do óleo foi avaliada por cromatografia e foram encontrados alguns compostos fenólicos como: tocoferol, ácido gálico, ácido p-cumarico, ácido trans-cinamico e quercentina.

**PALAVRAS-CHAVE:** Pimenta rosa; Extração; Extração supercrítica; Antioxidantes.

## ABSTRACT

The rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) has drawn attention from producers and consumers in the northeast of Brazil for offering health benefits due to its compounds. Therefore, the antioxidant and kinetic activity of rose pepper oil extract (*Schinus terebinthifolius* Raddi) were evaluated in this work. Extractions with pure supercritical CO<sub>2</sub> (SFE/CO<sub>2</sub>), supercritical CO<sub>2</sub> with isopropanol (SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O) and Soxhlet (SE) were carried out using methanol, ethanol and hexane solvents. In the supercritical fluid extraction process, a factorial 23 experimental design with replica in the central point was used, under process conditions with temperatures of 20, 40 and 60°C, pressures of 15, 20 and 25 MPa and solvent flow of 2, 3 and 4 mL min<sup>-1</sup> for SFE/CO<sub>2</sub>, 2, 4 and 6% isopropanol concentration and solvent flow set at 4 mL min<sup>-1</sup> for SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. The extraction kinetics were evaluated at 20 MPa/40°C/3 mL min<sup>-1</sup> for SFE/CO<sub>2</sub> and 20 MPa/40°C/4% for SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. The models of Tan and Liou, Esquivel and Martínez were used to adjust the kinetic curve. The Martínez model best fit the kinetic curve, which resulted in a smaller mean relative error (mre). Among the extraction methods, the Soxhlet extraction using methanol as the solvent achieved the best results with an overall oil yield (28.62%). The best results of the antioxidant activity were: by the DPPH method (125.82, 452.30 and 408.68 µg mL<sup>-1</sup>), ABTS (68.25, 35.53 and 28.82 µMTEAC g<sup>-1</sup> oil), (1424.85, 143.26 and 268.67 mgGAE 100g<sup>-1</sup> of oil) which were obtained in the Soxhlet extraction oil samples using methanol solvent, pure supercritical CO<sub>2</sub> and SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. The composition of the oil was evaluated by chromatography and some phenolic compounds were found: tocopherol, gallic acid, p-coumaric acid, trans-cinnamic acid and quercetin.

**KEYWORDS:** Rose pepper; Extraction; Supercritical extraction; Antioxidants.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Modo gradiente utilizado para eluição dos compostos fenólicos no CLAE.....	43
Tabela 2. Variáveis de entrada (P, T e $Q_{CO_2}$ ) e respectivos níveis para a SFE/ $CO_2$ .....	45
Tabela 3. Variáveis de entrada (P, T e CI) e respectivos níveis para a SFE/ $CO_2$ + $C_3H_8O$ .....	46
Tabela 4. Composição centesimal do resíduo da pimenta rosa.....	49
Tabela 5. Rendimento do óleo do resíduo da pimenta rosa via extração por Soxhlet (ES) e extração com fluido supercrítico (SFE).....	50
Tabela 6. Concentração de fenóis totais (FT) no óleo de resíduo de pimenta rosa via extração por Soxhlet (ES) e extração com fluido supercrítico (SFE).....	52
Tabela 7. Resultados da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS do óleo de resíduo de pimenta rosa obtidos via ES e SFE.....	54
Tabela 8. Conteúdo de fenólicos totais identificados pela análise de CLAE no óleo obtido por ES, SFE/ $CO_2$ e SFE/ $CO_2$ + $C_3H_8O$ .....	56
Tabela 9. Composição do óleo de pimenta rosa obtidos por SFE/ $CO_2$ e SFE/ $CO_2$ + $C_3H_8O$ .....	58
Tabela 10. Dados utilizados para estimação dos parâmetros dos modelos de Martinez et al. (2003), Tan e Liou (1989) e Ezquível (1999) – Extração supercrítica.....	60
Tabela 11. Parâmetros determinados dos modelos Martinez et al. (2003), Tan e Liou (1989) e Ezquível (1999).....	60

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Pimenta Rosa.....	17
Figura 2 – Representação genérica do diagrama de fases de um componente puro.....	25
Figura 3 – Reação entre um composto fenólico redutor e a espécie oxidante presente no reagente de Folin.....	28
Figura 4 – Estrutura química do radical DPPH e reação de estabilização com um antioxidante.....	29
Figura 5 – Diagrama de fluxo das atividades realizadas no presente trabalho .....	33
Figura 6 – Aparelho experimental: (1) Reservatório do Co-solvente, (2) Bomba tipo seringa (Teledyne Isco), (3) Controlador da bomba seringa (Teledyne Isco – Model 500D), (4) Cilindro CO <sub>2</sub> , (5) indicador de pressão (Smar, LD301), (6) Recipiente extrator (7) Controlador de temperatura (Novus –N1100), (8) Válvula agulha (HIP – 15-12AF2), (9) Recipiente de coleta do material extraído, (10) Suporte do equipamento.....	39
Figura 7 – Curva global da massa de óleo (g) por tempo de extração (min) via SFE a 20 MPa, 40°C e 3 mL min <sup>-1</sup> utilizando CO <sub>2</sub> puro. ....	59
Figura 8 – Curva global da massa de óleo (g) por tempo de extração (min) via SFE a 20 MPa, 40 °C e 4% utilizando CO <sub>2</sub> + C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O. ....	60

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	17
2.1 Pimenta rosa.....	17
2.2 Resíduos sólidos.....	19
<b>2.3 Caracterização físico-química de resíduos de pimenta rosa</b> .....	20
2.3.1 Acidez titulável (AT) .....	20
2.3.2 Umidade (U) .....	20
2.3.3 Lipídios totais (LT) .....	21
2.3.4 Proteínas.....	22
2.3.5 Cinzas (C) .....	22
<b>2.4 Extração de óleo</b> .....	22
2.4.1 Extração com Soxhlet (ES) .....	24
2.4.4 Extração Supercrítica .....	24
<b>2.5 Antioxidantes</b> .....	26
2.5.1 Atividade antioxidante .....	27
<b>2.6 Estimação de parâmetros cinéticos e de transferência de massa</b> .....	31
2.6.1 Modelos para Extração Supercrítica .....	31
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
<b>3.1 Material de partida</b> .....	34
<b>3.2 Caracterização físico-química do resíduo da pimenta rosa</b> .....	34
3.2.1 Determinação de umidade .....	34
3.2.2 Determinação de cinzas.....	34
3.2.3 Determinação de acidez.....	35
3.2.4 Lipídios totais.....	35
3.2.5 Determinação do teor de Proteína .....	36

<b>3.3 Caracterização das partículas de pimenta rosa e do leito da extração supercrítica</b>	<b>36</b>
3.3.1 Determinação do diâmetro médio de partículas de pimenta rosa	36
3.3.2 Densidade real das partículas de pimenta rosa	37
3.3.3 Densidade aparente das partículas no leito	37
3.3.4 Porosidade do leito	37
<b>3.4 Obtenção do óleo</b>	<b>38</b>
3.4.1 Extração com Soxhlet	38
3.4.2 Extração com fluido supercrítico (EFS)	38
3.4.3 Determinação do Rendimento de Extração	40
<b>3.5 Análises de antioxidantes</b>	<b>41</b>
3.5.1 Determinação de compostos fenólicos totais	41
3.5.2 Determinação da Atividade Antioxidante	41
<b>3.6 Análise dos óleos por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC (High Performance Liquid Chromatography)</b>	<b>43</b>
3.6.1. Quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	43
3.6.2 Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol)	44
3.6.3 Análise e identificação dos constituintes voláteis	44
<b>3.7 Planejamento experimental fatorial da SFE e Análise estatística</b>	<b>45</b>
<b>3.8 Estudo da cinética de extração</b>	<b>46</b>
3.8.1 Modelos matemáticos	47
3.8.2 Função objetivo	47
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>49</b>
<b>4.1 Determinação do Rendimento Global</b>	<b>49</b>
<b>4.2 Compostos fenólicos</b>	<b>52</b>
<b>4.3 Atividade antioxidante do óleo</b>	<b>53</b>
<b>4.4 Composição química do óleo</b>	<b>56</b>
4.4.1 Quantificação dos compostos fenólicos por CLAE	56

4.4.2 Identificação dos constituintes voláteis.....	57
<b>4.5 Modelos cinéticos matemáticos .....</b>	<b>59</b>
<b>4.6 Análise estatística.....</b>	<b>62</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As pimentas estão entre as especiarias mais apreciadas no mundo e movimentam um mercado em constante crescimento. No Brasil, estima-se que são cultivados anualmente 2000 ha com pimentas em todas as regiões brasileiras, destinadas aos mais diversos fins. De acordo com Emater (2013) o mercado para as pimentas pode ser dividido em função do objetivo da produção: mercado de consumo interno ou para exportação, como também pode ser dividido quanto à forma de apresentação do produto: mercado de consumo de produto *in natura* (pimentas sem processamento) ou mercado de consumo de produto processado. Praticamente toda a produção destinada à exportação é na forma processada, enquanto para o mercado interno tanto as formas processadas como *in natura* são importantes.

Segundo Santos (2014), o setor agroindustrial tem se expandido muito nos últimos anos, trazendo como consequência aumento no volume de resíduos agroindustriais. Parte destes resíduos é descartada no meio ambiente sem tratamento adequado, outra parte é utilizada na alimentação animal, destinos que, a priori, não geram ganhos econômicos para a agroindústria, além de representarem gargalos logísticos e ambientais na sua disposição. Assim sendo, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas buscando melhor aproveitamento dos resíduos do agronegócio.

No Brasil, em especial no Nordeste, há muita diversidade na produção agrícola, assim é crescente o número de pesquisas envolvendo a produção de antioxidantes naturais de óleos vegetais. Nesse contexto, técnicas de extração com solvente a partir de resíduos agrícolas para a produção de óleos com propriedades antioxidantes são cada vez mais estudadas na busca de promover a substituição de antioxidantes sintéticos ou fazer associações entre agentes naturais e sintéticos, propiciando o desenvolvimento de técnicas que reduzam os efeitos negativos de produtos não naturais.

Os antioxidantes sintéticos mais utilizados pela indústria de alimentos, como o BHA (butil-hidroxianisol), o BHT (butil-hidroxitolueno), PG (galato de propila) e o TBHQ (terc-butilhidroquinona), têm despertado preocupação quanto às doses de segurança e toxicidade, pois podem estar envolvidos em muitos riscos à saúde, incluindo câncer. Óleos de frutas, vegetais, cereais, sementes e seus resíduos são fontes potenciais de antioxidantes naturais, tais como o ácido ascórbico, tocoferóis, carotenoides e compostos fenólicos.

Além dos antioxidantes endógenos (enzimas antioxidantes), o organismo também utiliza aqueles provenientes da dieta como o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno (vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos. Conforme Ambigaipalan (2015) estudos

epidemiológicos, clínicos e de intervenção demonstram, cada vez mais, evidências de que os antioxidantes podem prevenir ou diminuir o desenvolvimento de muitas doenças.

Métodos tradicionais de extração, incluindo a extração com solventes orgânicos, a destilação a vapor e a hidrodestilação, são bastante utilizados para a obtenção de extratos e óleos essenciais de diversas matrizes vegetais. Conforme Hajimirsadegui (2007), estas técnicas geralmente envolvem altas temperaturas de processo que podem ocasionar alterações químicas e destruição de compostos termossensíveis, assim como a perda de qualidade do óleo. A tecnologia supercrítica e líquido pressurizado apresentam-se como técnicas alternativas de extrações que buscam o aumento da qualidade, utilizando a exploração da seletividade do processo como uma de suas principais características.

Nesse sentido, o objetivo geral deste estudo foi avaliar a atividade antioxidante e cinética de extração do óleo obtido do resíduo da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*) usando diferentes solventes e técnicas de extração. Além disso, os parâmetros cinéticos foram estimados usando-se os modelos de Tan e Liou, Esquivel e Martínez, visando melhor compreensão da extração com fluido supercrítico. Os objetivos específicos foram: Obter óleo a partir do resíduo de pimenta rosa usando extração com Soxhlet e extração supercrítica com dióxido de carbono puro e com álcool isopropílico como cossolvente; Obter as curvas cinéticas de rendimento de extração a partir dos sistemas de extração supercrítica; Obter parâmetros de transferência de massa e cinéticos através de modelos matemáticos nas extrações com fluidos supercríticos; Verificar a influência da temperatura, pressão e vazão nos processos de extração supercrítica através do planejamento experimental com ponto central e tendo como variável resposta o rendimento, concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante; Identificar e quantificar compostos antioxidantes (fenólicos e vitamina E) por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); Determinar o teor de compostos fenólicos totais dos óleos utilizando o método Folin-Ciocalteu; Determinar a atividade antioxidante dos óleos através do método de inibição do radical livre (DPPH e ABTS). O resíduo utilizado neste projeto é gerado no processo de produção e beneficiamento da pimenta rosa desenvolvido pela ONG Ecoengenho em Alagoas, município de Piaçabuçu vinculado ao Projeto Aroeira.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Pimenta rosa

A *Schinus terebinthifolius Raddi* é uma planta pertencente à família *Anacardiaceae* conhecida popularmente por diversos nomes, tais como: aroeira, pimenta rosa, aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira, aroeira-do-brejo, aroeira precoce, cabuí, fruto-de-raposa, coração-de-bugre, fruto-de-sábia, pimenta brasileira, aroeira-da-praia. A aroeira-pimenteira é uma árvore perene nativa da costa do Brasil e que foi introduzida em outras regiões da América do Sul, América Central, Europa, Ásia e África (BERGAMASCHI, 2015). É uma árvore mediana com 5 a 10 metros de altura, perenifólia, de copa larga e tronco revestido de casca grossa. Os frutos são globóides, aromáticos, adocicados e de coloração vermelha quando maduros, como observado na Figura 1.



Figura 1 – Pimenta Rosa

A pimenta rosa ocorre principalmente ao longo da Mata Atlântica, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, e seu plantio desponta como uma das alternativas para a diversificação agrícola. Os frutos de pimenta rosa comercializados *in natura* são amplamente empregados na culinária mundial ou utilizados na produção de óleo essencial. Segundo Bendaoud *et al.* (2010), o consumo destes frutos vem sendo estimulado desde a década de 80, principalmente em função da presença de compostos fenólicos, tendo sido utilizados nos últimos anos em substituição à pimenta-do-reino, sendo que há grande similaridade entre seus componentes químicos. Esta espécie apresenta alto poder alelopático e apresenta atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antissépticas, antifúngicas, antibacteriana e mutagênica.

Segundo Bertoldi (2006), a atividade antioxidante da pimenta rosa está relacionada à presença de compostos polares, principalmente os fenólicos. Tais propriedades podem ser potencializadas através da aplicação do extrato fenólico, ou oleorresina e óleo essencial, em produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentos.

Os estudos desenvolvidos por Bendaoud *et al.* (2010) mostraram que os óleos essenciais de pimenta rosa, obtidos de diferentes partes da planta, induziram a atividade antioxidante *in vitro* e também apresentaram citotoxicidade contra câncer de mama. O óleo essencial foi obtido por destilação a vapor de frutos originários do sul da Tunísia. Como resultado o que continha o maior teor de sesquiterpenos apresentou maior atividade biológica. Verificou-se também a ação antimicrobiana contra patógenos de origem alimentar e de humanos.

O trabalho desenvolvido por Martins *et al.* (2014) verificou que o óleo essencial das folhas e frutos de *Schinus molle*, com composição semelhante ao óleo de *Schinus terebinthifolius*, apresentou propriedades antioxidantes e antimicrobianas contra bactérias Gram positivas e negativas, e fungos deteriorantes de alimentos.

O melanoma maligno é um dos tipos mais agressivos de câncer e sua incidência tem aumentado gradualmente nos últimos anos, representando aproximadamente 75 % das mortes por câncer de pele. Matsuo *et al.* (2011) investigaram o mecanismo de morte celular induzida por  $\alpha$ -pineno e sua aplicação terapêutica. Os autores relataram que este composto, frequentemente presente nos óleos de pimenta rosa, foi muito eficaz no tratamento do melanoma metastático e na redução do número de nódulos tumorais pulmonares.

A pimenta rosa está entre as espécies vegetais listadas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), o qual é constituído de inventário de espécies vegetais com potencial de gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS). A finalidade da RENISUS é subsidiar o desenvolvimento de toda cadeia produtiva da planta, bem como orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da RENAFITO (Relação Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos), dando suporte ao desenvolvimento e a inovação na área de plantas medicinais e fitoterápicos (ANDRADE, 2017).

## 2.2 Resíduos sólidos

Por definição da NBR 10004 da ABNT (2004), resíduos sólidos são:

Resíduos nos estados sólido e semissólido, que resultam de atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição. Ficam incluídos nesta definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como determinados líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos de água, ou exijam para isso soluções técnica e economicamente inviáveis em face à melhor tecnologia disponível.

As atividades agropecuárias e de processamento de produtos agropecuários proporcionam diversos problemas ao meio ambiente, tais como: poluição no solo, em águas superficiais e em águas subterrâneas. Esses resíduos apresentam concentração de material orgânico elevada e seu lançamento em corpos hídricos podem proporcionar decréscimo na concentração de oxigênio dissolvido no meio (MATOS, 2005).

O aumento da preocupação a respeito dos resíduos sólidos deve-se à expansão da consciência coletiva com o meio ambiente. Com isso, a complexidade das atuais demandas ambientais, sociais e econômicas induz a um posicionamento dos três níveis de governo, sociedade civil e iniciativa privada. Os resíduos manejados adequadamente, adquirem valor comercial e podem ser utilizados na forma de novas matérias-primas ou novos insumos (BRASIL, 2017).

Os resíduos podem conter muitas substâncias de alto valor. Caso seja empregada tecnologia adequada, estes materiais podem ser convertidos em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários. Numerosas substâncias relacionadas ao processo de produção de alimentos são adequadas para separação e reciclagem (LAUFENBERG *et al.*, 2003).

A crescente preocupação com o meio ambiente leva à viabilização de projetos que visam à sustentabilidade do sistema de produção industrial. De acordo com Matos (2005), a indústria de alimentos produz uma série de resíduos com alto valor de reutilização, com isso inúmeras pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de aproveitamento desses resíduos. Isso faz com que minimize os impactos ambientais dessas indústrias na região onde estão localizadas e agrega valor aos produtos do mercado.

Estudo realizado por Kobori e Jorge (2005), em que sua finalidade foi caracterizar os óleos extraídos das sementes de laranja, maracujá, tomate e goiaba, como aproveitamento de resíduos industriais. Os óleos foram extraídos das sementes em um extrator Soxhlet, utilizando

como solvente o éter de petróleo. As análises realizadas indicaram que esses óleos possuem características físico-químicas semelhantes a óleos comestíveis, no qual pode ser uma nova fonte de óleos para o consumo humano.

Reda *et al.* (2005) pesquisaram a caracterização dos óleos essenciais de limão rosa e de limão siciliano, considerados como resíduos industriais, e puderam concluir que têm propriedades semelhantes aos dos óleos comestíveis com boa perspectiva de utilização na produção de alimentos.

## **2.3 Caracterização físico-química de resíduos de pimenta rosa**

### **2.3.1 Acidez titulável (AT)**

De acordo com o Instituto Adolfo Lutz – IAL (2008), a determinação de acidez pode fornecer um dado valioso na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons de hidrogênios. Os altos teores de ácidos revelam uma característica importante no que diz respeito ao processamento, pois os frutos que possuem uma elevada acidez não precisam de muita adição de acidificantes em processos industriais.

Dambros (2014) encontrou resultados na pimenta *Capsicum sp*, que variam de 0,12 a 0,64 g de ácido cítrico 100 g<sup>-1</sup> de amostra em base úmida. Rêgo *et al.* (2011), obtiveram resultados semelhantes avaliando diversos tipos de pimentas.

### **2.3.2 Umidade (U)**

Os frutos da aroeira quando recém colhidos apresentam uma alta atividade de água e substratos, favorecendo a ação enzimática e alterações fisiológicas, com consequentes perdas de constituintes voláteis e de princípios ativos, além de mudanças na textura e na coloração. Para garantir sua qualidade sensorial a pimenta rosa deve ser comercializada na forma dessecada.

A umidade representa o teor de água contida no alimento que quando se encontra fora das recomendações técnicas afeta a qualidade geral e, por consequência, afeta a estocagem, o processamento e a embalagem. De acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), resíduo obtido após o aquecimento é chamado de resíduo seco.

Mehta *et al.* (2017) estudaram o efeito de técnicas de secagem (solar, ar quente e secagem solar) e tratamento com branqueamento na análise físico-química de amêndoa e pimenta *Capsicum* spp, sendo que os resultados mostraram que o teor de umidade foi maior em vegetais frescos, devido aos seus 85-90 g 100 g<sup>-1</sup> de teor de água, em comparação com vegetais secos. A maior remoção de umidade foi encontrada em amostras de *Capsicum* seco por secagem solar não branqueada ( $2,2 \pm 0,01$  g 100 g<sup>-1</sup>) e amargo ( $2,4 \pm 0,10$  g 100 g<sup>-1</sup>) em comparação com um gabinete de ar quente e um capim aberto ao sol ( $3,4 \pm 0,20$  g 100 g<sup>-1</sup>;  $3,8 \pm 0,20$  g 100 g<sup>-1</sup>) e amargo-calabouço, respectivamente ( $2,3 \pm 0,10$  g 100 g<sup>-1</sup>;  $2,6 \pm 0,02$  g 100 g<sup>-1</sup>).

Foram apresentados valores de umidade por Dambros (2014) para pimenta *Capsicum* spp, apresentando menor teor de umidade sendo 77,23 % e a maior teor encontrada foi de 91,71 %.

Santos (2013) determinou umidade da matéria-prima pimenta malagueta *in natura* de  $61 \pm 1$  % e após 20 horas de secagem em uma estufa a 70°C, foi encontrada a umidade de equilíbrio de  $5,68 \pm 0,04$  %.

De acordo Lannes *et al.* (2007) deve ser levado em consideração o teor de umidade para utilização e escolha da pimenta para secagem, pois quanto menor o teor de umidade, menor será o custo de secagem.

### 2.3.3 Lipídios totais (LT)

Os lipídios são compostos orgânicos altamente energéticos, contêm ácidos graxos essenciais ao organismo e atuam como transportadores das vitaminas lipossolúveis. São substâncias insolúveis em água, mas solúveis em solventes orgânicos.

A determinação de lipídios em alimentos é feita, na maioria dos casos, pela extração com solventes, por exemplo, éter. Quase sempre se torna mais simples fazer extração contínua em aparelho do tipo Soxhlet, seguida da remoção por evaporação ou destilação do solvente empregado. O resíduo obtido não é constituído unicamente por lipídios, mas por todos os compostos que, nas condições da determinação, possam ser extraídos pelo solvente (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Resultado encontrado por Santos (2013) para o teor de lipídios totais, mostra o rendimento obtido pela técnica de Soxhlet com hexano de  $9,7 \pm 1$  %, ressaltando que valores próximos foram obtidos por Nogueira *et al.* (2005).

#### 2.3.4 Proteínas

A determinação do teor de proteínas baseia-se na determinação de nitrogênio nas amostras, geralmente feita pelo processo de digestão Kjeldahl. Este método é baseado em três etapas: digestão, destilação e titulação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Dambros (2014) obteve valores de teor de proteínas presente em pimenta *Capsicum* spp, para 10 tipos de diferente locais, variando o menor teor de 0,8 % e o maior de 2,32 %.

#### 2.3.5 Cinzas (C)

De acordo com o Instituto Adolfo Lutz (2008), resíduo por incineração ou cinzas é o nome dado ao resíduo obtido por aquecimento de um produto em temperatura próxima a 550-570 °C. Nem sempre este resíduo representa toda a substância inorgânica presente na amostra, pois alguns sais podem sofrer redução ou volatilização durante o aquecimento. Geralmente, as cinzas são obtidas por ignição de quantidade conhecida da amostra.

Resultados referentes a teor de cinzas foram encontrados por Dambros (2014) para pimenta *Capsicum* spp em 10 tipos de regiões diferentes, variando o teor de cinzas de 0,83 a 1,54 %.

### 2.4 Extração de óleo

Óleos essenciais são compostos aromáticos, voláteis que podem ser extraídos de raízes, caules, folhas, flores ou de todas as partes de plantas aromáticas. Essas extrações podem ocorrer por destilação de arraste a vapor, compressão de vegetais ou uso de solventes, sendo a primeira a mais utilizada. Os óleos obtidos a partir das técnicas de extração podem ser aplicados em diversas áreas industriais, como alimentícia, cosmética e farmacêutica (LAGO *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2014).

Segundo Dagostin (2015), a extração de óleos é um processo utilizado para remover os componentes do sólido, líquido ou gás, podendo ocorrer por diferentes formas: artesanal (fervura), prensagem mecânica (hidráulica e contínua), por solvente e outros processos mais avançados usando fluídos supercríticos, fluidos pressurizados (estado subcrítico) e enzimas. Antes da extração é necessário o preparo da amostra, que inclui descascamento, limpeza, secagem, desintegração, floculação e condicionamento ou aquecimento.

Em um processo de extração sólido-líquido, os componentes da fase sólida podem ser separados através da utilização de um solvente apropriado que possa ter afinidade com a sua parte solúvel. Para esse tipo de extração é necessário usar equipamentos especiais a fim de que ocorra a transferência de massa de maneira adequada (FOUST *et al.*, 2012).

De acordo com Gomide (1983), a transferência de massa ocorre até o equilíbrio ser atingido, ou seja, até o soluto está totalmente dissolvido obtendo uma solução com concentração uniforme. Quando o equilíbrio é atingido, tem-se o óleo, que é a solução que foi separada (soluto + solvente) e o sólido esgotado, que é o resíduo formado pelo sólido inerte e a solução que ficou retida nele. As variáveis usadas no balanço de massa são definidas de acordo com a Equação 1 e a Equação 2, considerando que não há material inerte no óleo.

$$Y_A = \frac{m_A}{m_A + m_S} \quad (1)$$

$$X_A = \frac{m_A}{m_A + m_S} \quad (2)$$

Sendo  $Y_A$  é a fração mássica do soluto no óleo,  $X_A$  é a fração mássica do soluto no sólido esgotado,  $m_A$  é a massa do soluto e  $m_S$  é a massa do solvente.

A quantidade de um elemento que é transportado no interior de outro elemento é chamada de difusão e é uma função do tempo. A velocidade que ocorre o processo de difusão na extração é dada pela taxa de transferência de massa, que matematicamente pode ser representada pela 1ª lei de Fick expressa na Equação 3 (CALLISTER e RETHWISSCH, 2013),

$$J = \frac{m}{At} \quad (3)$$

$J$  o fluxo de transferência de massa difusional ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ );  $m$  é a massa que difunde através e perpendicularmente a uma área unitária de seção reta do sólido por unidade de tempo (kg);  $A$  é a área através da qual a difusão está ocorrendo ( $\text{m}^2$ ) e  $t$  é o tempo de difusão decorrido (s).

O estudo da cinética de extração possibilita o conhecimento das taxas de transferência e mecanismo de extração, representando ferramenta importante para simulação e otimização do processo e uma melhor compreensão do rendimento do processo, tempo de processamento e redução de custo operacional (GOULA, 2013).

#### 2.4.1 Extração com Soxhlet (ES)

Entre os métodos de extrações tradicionais, a extração com Soxhlet (ES) é a referência utilizada para comparar a eficiência de outros sistemas de métodos. No entanto, esta metodologia requer tempos longos de extração e bastante quantidade de solvente (SUBRAMANIAM *et al.*, 2016).

A extração com Soxhlet permite vários ciclos de contato entre a amostra e o solvente, o que possibilita maior rendimento do processo, como também não é necessário, em regra, a filtração do material após a extração. Em contrapartida, os inconvenientes mais graves da extração com Soxhlet em comparação com outras técnicas de extração são: o longo tempo necessário para extração (até 48 h ou mesmo 72 h para analitos fortemente retidos); a grande quantidade de solvente utilizado, que não só é dispendioso para separá-lo, mas também é fonte de problemas ambientais adicionais (CASTRO e CAPOTE, 2016)

De acordo com Bertoldi (2006), que analisou os rendimentos da pimenta rosa na extração Soxhlet utilizando etanol ( $48,6 \pm 1,9$  %) e hexano ( $10,6 \pm 0,4$  %) como solventes, conclui-se que os resultados foram justificados pela polaridade dos solventes empregados, sugerindo a predominância de compostos polares nos óleos de pimenta rosa.

Andrade *et al.* (2017) realizaram extração Soxhlet usando como substrato pimenta rosa e três solventes diferentes: hexano, acetato de etila e etanol com suas respectivas polaridades de 0 para o hexano, 4,4 do acetato de etila e 5,2 para o etanol. Os rendimentos obtidos por média  $\pm$  desvio padrão utilizando o hexano ( $14,1 \pm 0,2$  %), acetato de etila ( $15 \pm 1$  %) e etanol ( $44 \pm 1$  %), sugerem que o solvente de maior polaridade obteve o maior desempenho pela presença de componentes com polaridade média a alta na pimenta rosa, como ácidos fenólicos, e os rendimentos mais baixos foram reflexo de solventes com polaridades mais baixas.

#### 2.4.2 Extração Supercrítica

Segundo Andrade *et al.* (2017), a extração supercrítica é a operação unitária de transferência de massa baseada no uso de fluidos a temperaturas e pressões acima dos valores críticos, conforme representado no diagrama de fases da Figura 2.

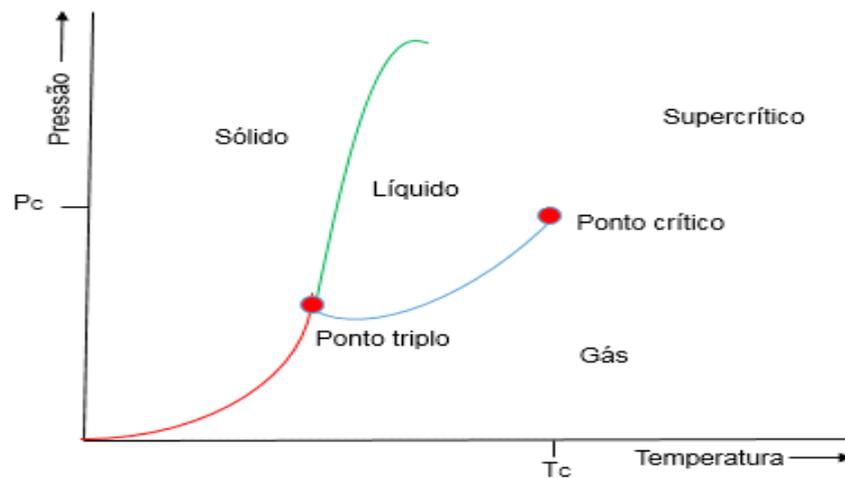


Figura 2 – Representação genérica do diagrama de fases de um componente puro.

A temperatura crítica ( $T_c$ ) é a temperatura mais alta na qual o gás pode ser convertido em líquido pelo aumento da pressão. A pressão crítica ( $P_c$ ) é a pressão mais elevada na qual o líquido pode ser convertido em gás pelo aumento da temperatura do líquido (ANDRADE *et al.*, 2017).

Um dos fluidos supercríticos mais usado na indústria e na pesquisa é o dióxido de carbono ( $CO_2$ ), que possui temperatura e pressão críticas de 304,2 K e 7,38 Mpa, respectivamente. Uma vez no estado supercrítico o fluido, em geral, apresenta propriedades intermediárias entre gás e líquido. O dióxido de carbono não é tóxico, quimicamente estável, não inflamável e facilmente removido do material extraído (KRAUJALIS *et al.*, 2016).

A extração supercrítica consiste basicamente em duas etapas: solubilização dos compostos presentes na matriz sólida e separação desses do solvente supercrítico. Durante a extração, o solvente flui através do leito de partículas, solubilizando os compostos presentes na matriz vegetal. O solvente sai do extrator carregando as substâncias solubilizadas, e por meio da redução da pressão, o óleo é liberado do solvente (PEREIRA e MEIRELES, 2010).

Durante a extração, o solvente supercrítico escoia através do leito fixo formado por partículas sólidas, solubilizando os componentes presentes no sólido. À medida que o solvente escoia através do material vegetal, ocorre a transferência de massa do soluto da fase sólida para a fase fluida e, em qualquer ponto dentro do extrator, a concentração de óleo a ser extraído varia continuamente em cada fase até que o equilíbrio seja alcançado. A força motriz para a transferência de massa no processo é o equilíbrio da concentração de solutos entre as fases sólida e fluida (MICHIELIN, 2009).

Bagheri *et al.* (2014) avaliaram a atividade antioxidante dos óleos supercríticos de pimenta-do-reino obtidos em condições de pressão e temperatura que variaram de 15 a 34,7

MPa, e 35 a 55°C, respectivamente. O menor valor de IC<sub>50</sub> (correspondente ao melhor potencial antioxidante), 364,72 µg mL<sup>-1</sup>, foi obtido na condição de 15 MPa e 50°C, na extração com 80 min de duração.

A avaliação de rendimento de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico na pimenta rosa foi realizada por Andrade *et al.* (2017), o estudo foi conduzido a temperaturas de 40, 50 e 60°C e pressões de 15, 20 e 30 MPa, em fluxo de solvente constante de 8 ± 2 g min<sup>-1</sup>. O maior rendimento encontrado foi de 5,9 ± 0,3 % nas condições de 60°C e 30 MPa, com massa específica de solvente igual a 830 kg de CO<sub>2</sub> m<sup>-3</sup>. O menor rendimento avaliado foi de 2,6 ± 0,2 % na temperatura de 60°C e pressão de 15 MPa com massa específica de solvente com o valor de 606 kg de CO<sub>2</sub> m<sup>-3</sup>.

Andrade *et al.* (2017) executaram extração com CO<sub>2</sub> supercrítico na pimenta-do-reino, nas mesmas condições de temperatura e pressão da extração feita na pimenta rosa. O melhor rendimento foi encontrado nas condições de 60°C e 30 MPa, com massa específica de 830 kg de CO<sub>2</sub> m<sup>-3</sup>, sendo de 3,2 ± 0,3 %. O menor rendimento na temperatura de 60°C e pressão de 15 MPa com massa específica de solvente com o valor de 606 kg de CO<sub>2</sub> m<sup>-3</sup> foi de 1,4 ± 0,3 %. Portanto, ambas as amostras apresentaram os melhores rendimentos nas mais altas condições de pressão e temperatura.

Mantendo a temperatura constante e variando a pressão, nota-se o aumento do rendimento, tanto para pimenta rosa quanto para a pimenta-do-reino. De acordo com Brunner, (1994) este aumento no rendimento acontece, pois com o aumento da pressão ocorre o aumento da densidade do solvente, influenciando no poder de solvatação do CO<sub>2</sub>.

Acrescenta-se que com o aumento da pressão pode ocorrer o aumento no número de compostos solubilizáveis por conta das rupturas da matriz vegetal (CAMPOS *et al.*, 2005).

## 2.5 Antioxidantes

Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir ou retardar a oxidação de substratos oxidáveis. O efeito do antioxidante consiste na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metálicos ou na redução dos hidroperóxidos.

De acordo com Fennema (2010), radicais livres são moléculas ou fragmentos moleculares que possuem um ou mais elétrons desemparelhados, o que as tornam extremamente reativas quimicamente. Quando há uma produção excessiva de radicais de oxigênio no organismo humano é possível que ocorram danos muito profundos às suas células e aos seus tecidos pela falta de antioxidantes disponíveis *in vivo*.

O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre os radicais livres e os agentes antioxidantes presentes no organismo. Os sistemas biológicos são capazes de produzir inúmeras formas de se proteger da oxidação. Geralmente, os tecidos biológicos de onde os alimentos são obtidos contêm muitos sistemas antioxidantes endógenos, porém, durante o processamento desses alimentos pode haver remoção dos antioxidantes ou pode causar um estresse oxidativo que possa superar os sistemas antioxidantes do próprio alimento. Por isso a incorporação da proteção antioxidante adicional a alimentos processados é tão importante e buscada. Entre os mecanismos antioxidantes usados para aumentar a estabilidade oxidativa dos alimentos estão: controle de radicais livres, pró-oxidantes e intermediários da oxidação (FENNEMA, 2010).

Segundo Shahidi Zhong (2015), existem duas classificações de antioxidantes: os primários, que são capazes de interromper a cadeia de radicais, cedendo hidrogênio a um radical lipídico livre, assumindo, assim, a forma de radical estável; e os secundários, que reduzem o processo de iniciação utilizando agentes quelantes de metais.

De acordo com Souza (2015), nos vegetais, assim como todos os alimentos e bebidas derivadas deles, são ricos em vários tipos de antioxidantes, como: vitamina C,  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno e compostos fenólicos, os quais estão presentes na maioria dos compostos com atividade antioxidante. A eficácia da ação antioxidante depende da estrutura química e da concentração destes fitoquímicos no alimento.

### 2.5.1 Atividade antioxidante

Devido aos diferentes tipos de radicais livres gerados e às diferentes formas de atuação nos organismos vivos, é necessário que existam diversos métodos que avaliem de forma satisfatória a atividade antioxidante, por isso inúmeros testes vêm sido desenvolvidos, desde os mais básicos, como ensaios químicos com substratos lipídicos, aos mais complexos envolvendo diversas técnicas instrumentais. Através desses testes é possível escolher os parâmetros necessários para que a atividade antioxidante seja de fato aceitável, além de comprovar a presença de substâncias antioxidantes em bebidas e comidas (SANTIAGO, 2015).

#### a) Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo grupos funcionais. A estrutura química

determina sua capacidade de atuar como sequestrador de radicais livres. O tipo de composto, o grau de metoxilação e o número de hidroxilas são alguns dos parâmetros que determinam esta atividade antioxidante, possibilitando atuarem como agentes redutores, exercendo assim proteção ao organismo contra o estresse oxidativo. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e na quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (GÓMEZ-RUIZ *et al.*, 2007).

Conforme descrito por Shaghghi (2008), a quantificação de compostos fenólicos totais pode ser determinada pelo o método que leva o nome do principal reagente empregado, Folin-Ciocalteu. Esse método envolve a redução do reagente Folin-Ciocalteu, que apresenta uma coloração amarela, pelos compostos fenólicos das amostras concomitantes a formação de um complexo azul, cuja intensidade é proporcional ao número de hidroxilas nos compostos fenólicos, de acordo com Figura 3. O desenvolvimento da reação pode ser acompanhado em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 760 nm.

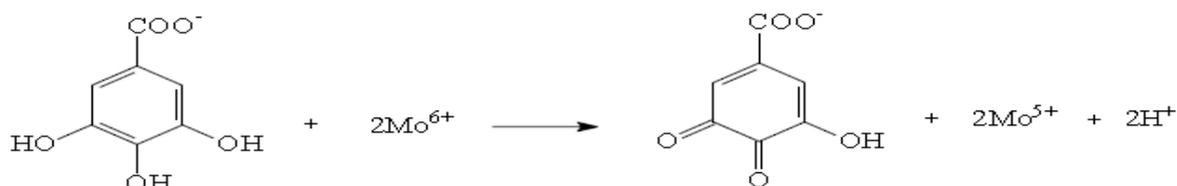


Figura 3 – Reação entre um composto fenólico redutor e a espécie oxidante presente no reagente de Folin.

Os antioxidantes fenólicos interagem, preferencialmente, com o radical peroxil por este ser mais prevalente na etapa da autooxidação e por possuir menor energia do que outros radicais, fato que favorece a abstração do seu hidrogênio. O radical fenoxil resultante, embora relativamente estável, pode interferir na reação de propagação ao reagir com um radical peroxil. O composto formado, por ação da luz ultravioleta e temperaturas elevadas, poderá originar novos radicais, comprometendo a eficiência do antioxidante, que é determinada pelos grupos funcionais presentes e pela posição que ocupam no anel aromático, bem como, pelo tamanho da cadeia desses grupos.

Andrade (2015) encontrou resultados para extração Soxhlet com acetato de etila na determinação de compostos fenólicos totais para pimenta-do-reino e pimenta rosa, sendo  $55 \pm 6$  mg EAG g<sup>-1</sup> de óleo para pimenta-do-reino, e  $65 \pm 1$  mg EAG g<sup>-1</sup> de óleo para pimenta rosa.

No método de extração assistida por ultrassom, utilizando o etanol como solvente, os resultados foram menores sendo de  $27 \pm 0,4$  mg EAG  $g^{-1}$  de óleo para pimenta-do-reino e  $14 \pm 1$  mg EAG  $g^{-1}$  de óleo para pimenta rosa (ANDRADE, 2015).

Apesar da ampla faixa de polaridade dos compostos fenólicos, podendo ser solubilizados por solventes de baixa polaridade, esses compostos são classificados como polares, sendo solubilizados com solventes com maior polaridade (ZIANKOVA e BRANDSTETEROVA, 2002).

#### b) 2,2-Difenil-1-picrilhidrazila (DPPH)

O princípio de ensaio do DPPH é a redução do radical livre estável orgânico de nitrogênio (2,2-difenil-1-picrilizadril). A molécula de DPPH é caracterizada como radical livre estável em virtude do elétron desemparelhado na molécula. Ao abstrair um radical de hidrogênio do antioxidante observa-se a diminuição da absorbância e a coloração passa do violeta para o amarelo, com absorção de 517 nm, cuja reação está apresentada na Figura 4.

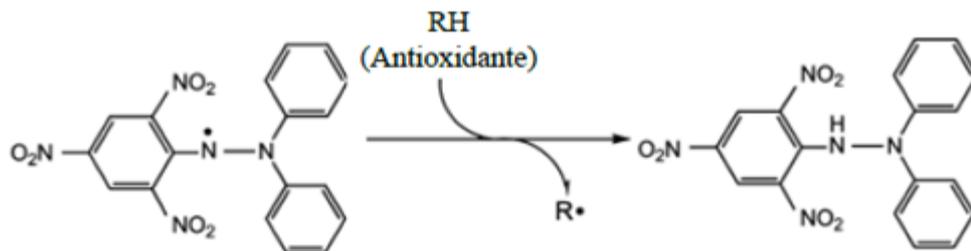


Figura 4 – Estrutura química do radical DPPH e reação de estabilização com um antioxidante.

Os resultados do DPPH podem ser expressos em porcentagem de atividade antioxidante, micromols de equivalentes de um padrão (Trolox), ou ainda como  $IC_{50}$  que representa a quantidade de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50 %. Esse método foi introduzido como sendo um método fácil e preciso para uso em frutas e óleos vegetais

Dourado (2012) apresentou três óleos de pimenta rosa madura: o aquoso, etanólico e cetônico, com os respectivos  $IC_{50}$  de 0,0170, 0,0206 e 0,0241 grama de pimenta por grama de DPPH. O óleo aquoso é o que tem uma atividade antioxidante maior, pois apresentou o menor valor de  $IC_{50}$  comparado aos outros óleos.

Oliveira e Sawaya (2008), através do DPPH, encontraram  $IC_{50}$  de 0,040 mg de DPPH em mL água, e 0,114 mg de DPPH em mL etanol, para folhas de pitanga, apresentando também uma alta atividade antioxidante em solução aquosa.

Dourado (2012) sugere que as substâncias com atividade antioxidante presente na pimenta rosa são solúveis em água, etanol e acetona. De maneira que no óleo o teor de polifenóis esteja presente com maior concentração, neutralizando os radicais livres do oxigênio, e reduzindo o estresse oxidativo.

c) Método ABTS [2,2-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]

Além do método do sequestro do radical DPPH, outro que também é muito utilizado, para a determinação da atividade antioxidante, é o método do ABTS<sup>•+</sup> [2,2-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]. Ambos apresentam excelente estabilidade em certas condições de análises, mas também mostram diferenças importantes frente aos antioxidantes e à manipulação (SARAVANAN *et al.*, 2014).

O método, segundo Boroski *et al.* (2015), baseia-se na geração do radical ABTS, de cor azul esverdeado, formado pela reação do persulfato de potássio com 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), produzindo a oxidação do ABTS. A atividade antioxidante das amostras é determinada pela descoloração do ABTS, medindo-se a redução do radical em absorvância de 734 nm (*vide* Figura 4). A absorvância da reação da mistura de ABTS e antioxidante é comparada com a atividade do antioxidante sintético Trolox (padrão), e os resultados expressos em  $\mu\text{mol}$  de Trolox TEAC  $\text{g}^{-1}$  (atividade antioxidante equivalente ao Trolox).

d) Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC)

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) representa a mais popular e confiável técnica para análises de compostos fenólicos, possibilitando a análise simultânea de todos os componentes de interesse junto com seus possíveis derivados ou produtos de degradação (OLIVEIRA, 2014).

O processo cromatográfico consiste em um processo de separação com duas fases: a móvel e a estacionária. Na cromatografia líquida, a fase estacionária é compreendida por partículas sólidas empacotadas em uma coluna, que é percorrida pela fase móvel. Devido as forças física e químicas que atuam sobre o soluto, ambas as fases são responsáveis pela retenção do mesmo sobre a coluna cromatográfica, porém, é a diferença na magnitude delas que vai determinar a separação de cada soluto (SILVA, 2012).

## 2.6 Estimação de parâmetros cinéticos e de transferência de massa

Vários modelos para o estudo cinético de extração de óleos usando fluido supercrítico são propostos na literatura. Alguns destes modelos são apresentados a seguir, sendo estes baseados em equações empíricas ou no balanço diferencial de massa aplicado na coluna de extração (CAVALCANTI, 2013).

### 2.6.1 Modelos para Extração Supercrítica

#### a) Modelo de Martínez

Os extratos obtidos pela técnica supercrítica são formados pela mistura de vários compostos ou de grupos específicos de compostos presentes na planta. Neste caso, a modelagem de processos de extração deve levar em conta a variação da composição do extrato ao longo da extração. O modelo de Martínez *et al.* (2003) usa a Equação 4, para modelar a extração de cada grupo de composto do extrato.

$$m_{\text{ext}}(h = H, t) = \frac{x_0 m_t}{\exp(bt_m)} \left[ \frac{1 + \exp(bt_m)}{1 + \exp(b(t_m - t))} - 1 \right] \quad (4)$$

Em que  $h$  é a coordenada axial,  $H$  é o comprimento total do leito,  $m_{\text{ext}}$  é a massa de extrato (g),  $x_0$  é a fração de soluto total disponível,  $m_t$  é a massa total de sólido na coluna de extração (g),  $t$  é o tempo de extração (s),  $b$  ( $\text{min}^{-1}$ ) e  $t_m$  (min) são parâmetros ajustáveis do modelo.

#### b) Modelo de Esquível (modelo empírico de Langmuir)

A cinética de extração pode ser representada por equação similar à isoterma de Langmuir. Esquível *et al.* (1999) usaram um modelo empírico baseado na equação da cinética de crescimento microbiano de Monod, cuja a curva de extração pode ser descrita com a Equação 5.

$$m_{\text{ext}}(t) = x_0 m \left( \frac{t}{b+t} \right) \quad (5)$$

Sendo  $m_{\text{ext}}(t)$  é a massa de extrato (kg) em função do tempo,  $t$  é o tempo de extração (s),  $m$  é a massa de matéria-prima (kg),  $x_0$  é a razão mássica de extrato na matéria-prima ( $\text{kg kg}^{-1}$ ) e  $b$  é um parâmetro ajustável (s).

c) Tan e Liou (1989)

A modelagem é representada por um modelo de cinética de primeira ordem através da transferência de massa interfacial. A curva de extração a ser obtida pelo modelo deve apresentar a massa de óleo na saída do extrator em função do tempo de extração, conforme a Equação 6, o único parâmetro que deve ser ajustável é o coeficiente de dessorção,  $k_d$ , para adequação do mesmo aos dados experimentais e os termos referentes à dispersão axial e à difusão são desprezados, pois não influenciam significativamente no processo.

$$m(m = H, t) = \frac{A}{k_d} [1 - \exp(k_d B)] [\exp(-k_d t) - 1] \quad (6)$$

Sendo:

$$A = \frac{\dot{m}_F (1 - \varepsilon) x_0 \rho_S}{\varepsilon \rho_F} \quad (7)$$

$$B = \frac{\varepsilon H S \rho_F}{\dot{m}_F} \quad (8)$$

Em que  $H$  é o comprimento total do leito (cm),  $k_d$  é o coeficiente de dessorção ( $\text{min}^{-1}$ ),  $m$  é a massa de matéria-prima no extrator (g),  $S$  é a área transversal do extrator ( $\text{cm}^2$ ),  $\dot{m}_F$  é a vazão mássica do solvente (g/min),  $\rho_S$  é a densidade do sólido ( $\text{g cm}^{-3}$ ),  $\rho_F$  é a densidade do solvente ( $\text{g cm}^{-3}$ ),  $X_0$  é a concentração inicial do óleo na matriz sólida ( $\text{g}_{\text{óleo}} \text{g}_{\text{sólido}}^{-1}$ ) e  $\varepsilon$  é a porosidade.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo desenvolvido no referente trabalho pode ser resumido de acordo com a Figura 5.

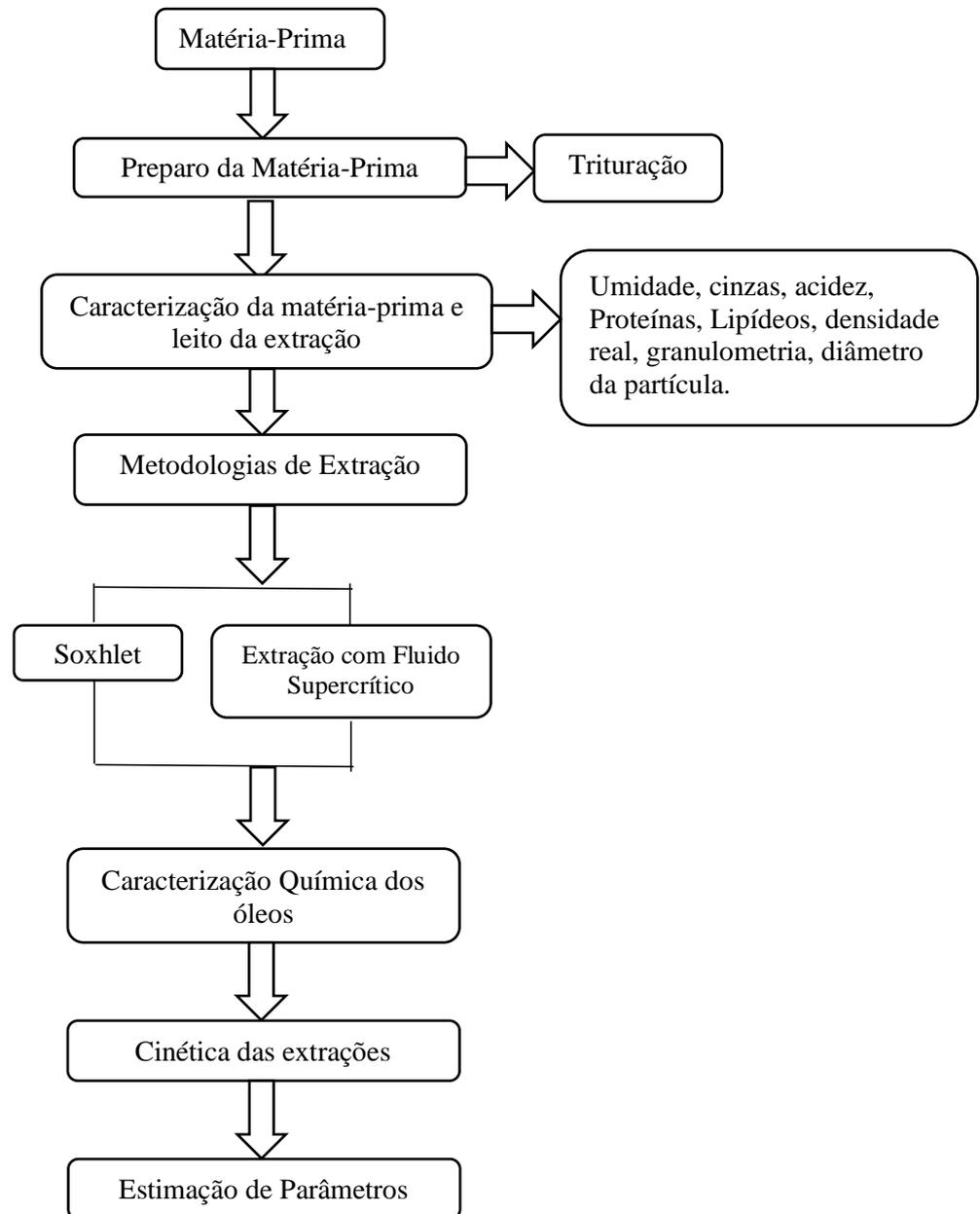


Figura 5 – Diagrama de fluxo das atividades realizadas no presente trabalho.  
Fonte: Elaborado pela autora.

### 3.1 Material de partida

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Química Industrial da Universidade Federal de Sergipe (UFS) e na Universidade Estadual de Maringá (UEM). O resíduo da pimenta rosa foi obtido pela Organização Não-Governamental ECOENGENHO, situada na cidade de Piaçabuçu no estado de Alagoas.

Após ser transportado para o Laboratório de Química Industrial (LQI), o resíduo foi triturado em um moinho (BERMAR; Potência 60Hz) e armazenado em saco plástico à temperatura ambiente para análises posteriores.

### 3.2 Caracterização físico-química do resíduo da pimenta rosa

Foram realizadas as análises de umidade, cinzas, acidez titulável, lipídeos totais e proteínas para caracterização físico-química do resíduo. Todas as análises foram realizadas de acordo com o Instituto Adolf Lutz (2008) com ensaios realizados em triplicata.

#### 3.2.1 Determinação de umidade

Foi pesado em balança analítica (Shimadzu; AUY220), 5 g da pimenta em cápsula de porcelana previamente tarada, levou-a para a estufa (Sterilifer; SX 1.0) a 105°C até que a massa atingisse valor constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL, 2008). O valor da umidade é dado através da Equação 9, sendo  $m_0$  a massa seca (g) e  $m$  a massa de matéria-prima (g).

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{m_0 * 100}{m} \quad (9)$$

#### 3.2.2 Determinação de cinzas

A determinação do resíduo mineral fixo (cinzas) foi realizada pela incineração em mufla (Científica; GP-2000G) a 550°C, conforme a metodologia do IAL (2008). O resultado do teor de cinzas na amostra foi obtido a partir do cálculo da Equação 10.

$$\text{Cinzas (\%)} = \frac{N * 100}{m} \quad (10)$$

Em que: N é o número de cinzas (g) e m é a massa de matéria-prima (g).

### 3.2.3 Determinação de acidez

A acidez de pimenta rosa foi determinada através do método titulométrico, de acordo com a metodologia do IAL (2008). Os valores obtidos após a titulação com hidróxido de sódio 0,1 M, foram calculados conforme a Equação 11.

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{V * f * 100}{m * c} \quad (11)$$

Em que: V representa o volume gasto de hidróxido de sódio na titulação (mL); f é o fator de correção da solução de hidróxido de sódio; m é a massa da amostra usada na titulação (g); e c é a correção para solução de hidróxido de sódio.

### 3.2.4 Lipídios totais

Os lipídios totais foram determinados utilizando hexano (Vetec PA) como solvente, sob-refluxo em aparelho Soxhlet por 6 h. Os balões volumétricos de 500 mL com o óleo e o solvente foram colocados em rotaevaporador (Logen Scietific; LSRE-5299) a vácuo (Primatec; 131) até a evaporação total do solvente. Em seguida, as amostras foram colocadas em estufa a 105°C durante duas horas. O extrato etéreo foi pesado em balança analítica e o teor de óleo foi calculado pela relação entre  $m_{\text{óleo}}$ , massa do óleo (g), e m, massa da amostra (g), conforme Equação 12 (IAL, 2008).

$$\text{Lipídios totais (\%)} = \frac{m_{\text{óleo}} * 100}{m} \quad (12)$$

### 3.2.5 Determinação do teor de Proteína

A determinação do teor de proteína consiste em três etapas de acordo com a metodologia abordada por Cecchi (2003): digestão, destilação e titulação. Na digestão pesou-se 0,2 g da amostra em tubo de Kjeldalh e adicionou-se 1,5 g da mistura catalítica ( $\text{CuSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ ) e 3 mL de ácido sulfúrico. O tubo foi colocado num bloco digestor, com temperatura inicial de 100 °C e foi-se aumentando gradativamente a sua temperatura até atingir 400 °C. A amostra permaneceu no bloco digestor por 20 min, seguida de esfriamento em capela. A destilação foi realizada com 40 mL de água destilada e 3 gotas de fenolftaleína em cada tubo. A amostra foi transferida para o destilador (Logen; L50361), no qual adicionou-se 15 mL de hidróxido de sódio. Em erlenmeyer foram colocados 10 mL de ácido bórico e 4 gotas alaranjado de metila e 6 gotas de bromocresol. A destilação se procedeu até que se atingisse 50 mL no erlenmeyer. Após, titulou-se o destilado com ácido clorídrico 0,1 M. O resultado do teor de proteína é representado de acordo com a Equação 13.

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{V * 0,14 * f}{m} \quad (13)$$

Sendo: V o valor de ácido clorídrico gasto na titulação (mL); m a massa da amostra (g); f o fator de conversão que é dado pelo valor de 6,25 para esse tipo de amostra.

## 3.3 Caracterização das partículas de pimenta rosa e do leite da extração supercrítica

### 3.3.1 Determinação do diâmetro médio de partículas de pimenta rosa

A análise foi realizada usando peneiras de Taylor. Pesou-se individualmente as peneiras, monta o conjunto de peneiras, sobrepondo-as em ordem decrescente de abertura das malhas. Pesou-se aproximadamente 30 g da amostra e transferiu para o topo do conjunto de peneiras. Colocou-se a tampa e realizou-se o peneiramento manualmente pelo período de 10 min. Pesou-se individualmente as peneiras com as respectivas frações retidas.

O resultado do diâmetro da partícula foi determinado de acordo com o sistema de classificação de peneiras da ABNT. A curva granulométrica é obtida relacionando o diâmetro médio de cada par de peneiras com a fração mássica retida em cada peneira. O diâmetro médio de Sauter é obtido através da Equação 14.

$$D_{ps} = \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{X_i}{D_i}} \quad (14)$$

Em que:  $D_{ps}$  é o diâmetro da partícula de Sauter (mm),  $X_i$  é a fração mássica retida e  $D_i$  é o diâmetro médio de cada partícula (mm).

### 3.3.2 Densidade real das partículas de pimenta rosa

A densidade real ( $\rho_r$ ) foi determinada pela técnica de picnometria em gás hélio, cerca de 3 g de amostra foram dispostas em uma cápsula que é inserida em equipamento Acc Pyc II 1340 e o resultado foi a média das triplicatas  $\pm$  o desvio padrão.

### 3.3.3 Densidade aparente das partículas no leito

A densidade aparente ( $\rho_a$ ) foi realizado a partir da razão entre a massa da matéria-prima utilizada no leito de extração e o volume total do mesmo conforme Equação 15.

$$\rho_a = \frac{m_s}{V} \quad (15)$$

Onde  $\rho_a$  é a densidade aparente do leito ( $\text{g cm}^{-3}$ ),  $m_s$  é a massa de que alimentada na célula de extração (g), e  $V$  é o volume interno do extrator ocupado pela matéria-prima ( $\text{cm}^3$ ). A determinação da densidade aparente foi obtida através da média de 3 replicatas.

O volume utilizado no extrator para o aparelho de extração supercrítica foi de 55,54  $\text{cm}^3$ .

### 3.3.4 Porosidade do leito

A porosidade do leito com as partículas ( $\varepsilon$ ) foi determinada através da densidade aparente e da densidade real das partículas segundo Equação 16.

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (16)$$

### 3.4 Obtenção do óleo

A obtenção do óleo de pimenta rosa ocorreu a partir de diferentes técnicas de extração (Soxhlet e fluido supercrítico). As extrações por Soxhlet foi realizada no LQI/UFS com etanol (Anidrol, 99.5% P.A), metanol (Neon, P.A) e hexano (Neon, P.A) como solventes extratores, os quais são os solventes mais utilizados em processos de extração da matriz vegetal. As extrações com CO<sub>2</sub> supercrítico puro e CO<sub>2</sub> supercrítico com isopropanol (Anidrol, PA) foram realizadas no Laboratório de Nanotecnologia e Tecnologia Supercrítica (LNTS) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) na cidade de Maringá, Paraná, Brasil.

#### 3.4.1 Extração com Soxhlet

A técnica de extração com Soxhlet foi realizada utilizando como solvente de extração o etanol (Anidrol, 99.5% P.A), metanol (Neon, P.A) e hexano (Neon, P.A), segundo metodologia usada por Barrales *et al.* (2015) com algumas adaptações em relação ao tempo de extração.

Pesou-se em papel de filtro, 10 g da amostra triturada e acondiciona-se dentro do aparelho Soxhlet, o qual é acoplado ao balão de fundo chato. Adicionou 250 mL do solvente extrator. Ao extrator Soxhlet foi encaixado o condensador de bolas para o resfriamento do solvente. Manteve sob aquecimento em chapa elétrica (Lucadema Científica; 1000), sob temperatura controlada para não exceder a temperatura de ebulição do solvente, a extração continua por cerca de 2 h. Após esse período o solvente é rotaevaporado sob metade da temperatura do ponto de ebulição de cada solvente, sob vácuo, até ocorrer a condensação total do solvente e ficar no balão somente o óleo extraído. Posteriormente o óleo extraído é pesado e acondicionado em frasco âmbar.

#### 3.4.2 Extração com fluido supercrítico (EFS)

As extrações com fluido supercrítico aconteceram em aparelho montado no LNTS/UEM conforme esquematizado na Figura 6. A unidade de extração em escala laboratorial foi composta por extrator encamisado com volume interno de aproximadamente 55,54 cm<sup>3</sup> (19,6 cm de altura e 1,9 cm de diâmetro interno), ligado a dois banhos termostáticos (marca Itherm, modelo Vivo RT4), a válvula agulha com regulagem micrométrica para controle da vazão no

interior do extrator, a duas bombas de seringa de alta pressão (marca TELEDYNE ISCO, modelo 500D), sensores e transdutores de pressão e temperatura.

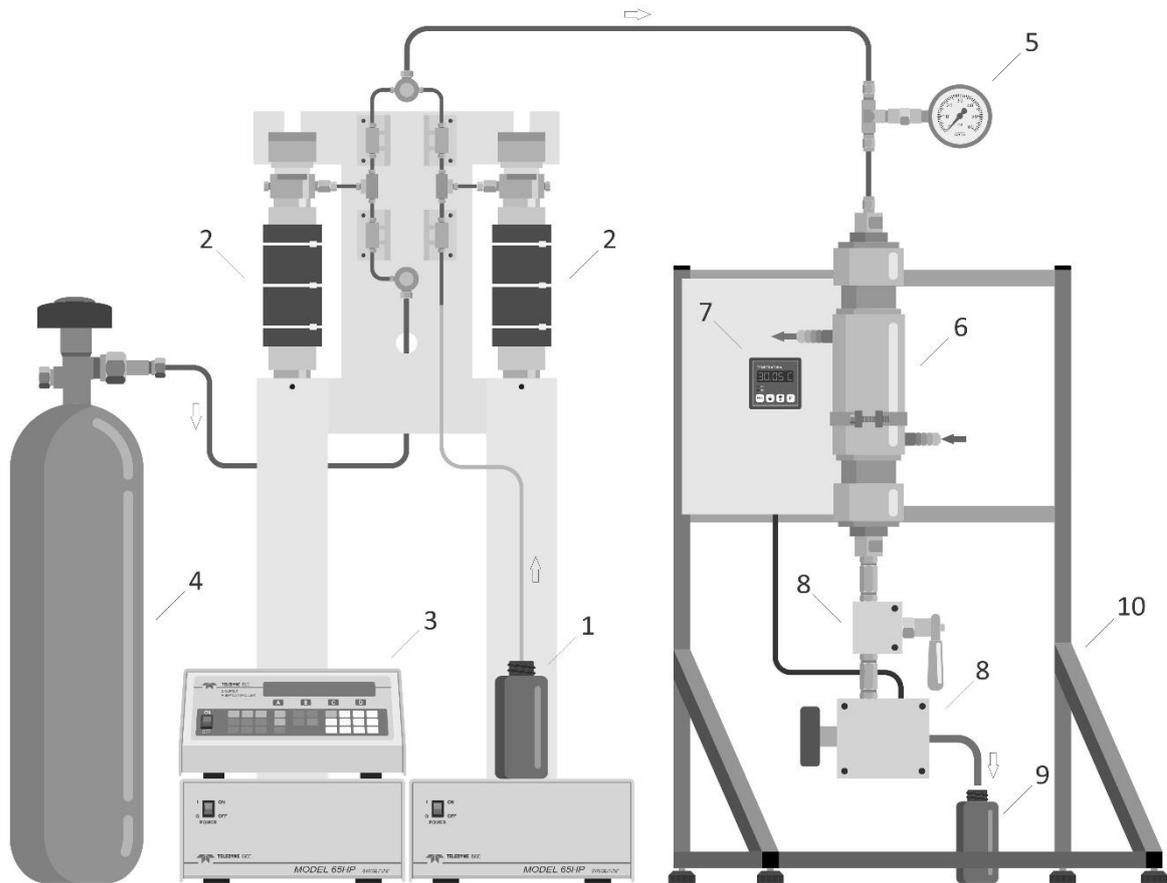


Figura 6 – Aparelho experimental: (1) Reservatório do Co-solvente, (2) Bomba tipo seringa (Teledyne Isco), (3) Controlador da bomba seringa (Teledyne Isco – Model 500D), (4) Cilindro CO<sub>2</sub>, (5) indicador de pressão (Smar, LD301), (6) Recipiente extrator (7) Controlador de temperatura (Novus –N1100), (8) Válvula agulha (HIP – 15-12AF2), (9) Recipiente de coleta do material extraído, (10) Suporte do equipamento.

Fonte: Autor

A metodologia utilizada para a extração supercrítica foi realizada de acordo com a descrita por Garcia *et al.* (2012). Nas extrações foram utilizados os solventes CO<sub>2</sub> em seu estado supercrítico e isopropanol (Anidrol, PA) como cossolvente. Os experimentos foram realizados em temperaturas distintas (20, 40 e 60 °C), pressões (15, 20 e 25 MPa), vazão de CO<sub>2</sub> (2, 3, 4 mL.min<sup>-1</sup>) e quando adicionado isopropanol manteve-se a vazão de CO<sub>2</sub> fixa em 4 mL min<sup>-1</sup> e acrescentou-se à condição operacional, a concentração de isopropanol (2, 4 e 6%). As extrações ocorreram conforme citado abaixo:

a) Antes da extração verificou-se o fechamento de todas as válvulas e ligou-se o banho termostático a -10 °C;

b) Aproximadamente 15 g da amostra foi inserido no leito de extração (LE); para prevenir o entupimento das linhas de entrada do solvente e de saída do extrato, foi colocado algodão nas extremidades da célula, antecedendo os filtros;

c) Abriam-se as válvulas do cilindro de CO<sub>2</sub> e leu-se a pressão no manômetro PT;

d) Em PC-1, abriu-se as válvulas para a pressurização do sistema com CO<sub>2</sub>; no caso em que se trabalhou com o cossolvente, abriu-se as válvulas em PC-1 e PC-2 para a pressurização do sistema com CO<sub>2</sub> e isopropanol.

e) Quando se atingiu a pressão de trabalho a mesma foi monitorada através do manômetro PT;

f) O leito de extração (LE) encamisado foi aquecido através de banho termostático até a temperatura de trabalho, a qual foi monitorada pelo termopar TT;

g) Após período pré-estabelecido de modo estático (30 min), abriram-se as válvulas de saída V1 e V2 para que tivesse início o modo dinâmico de extração;

h) O extrato foi recolhido em frasco de vidro (FC);

i) Após o fim da extração, fecharam-se as válvulas em PC-1 e PC- 2, e desligaram-se as bombas;

j) Fecharam-se as válvulas do cilindro;

k) Aguardou-se a despressurização do sistema;

l) Desligaram-se os banhos termostáticos;

m) Abriu-se o extrator LE retirando a célula;

O tempo total de extração foi de 90 min. As amostras de óleo foram armazenadas a -18 °C até a realização das análises. Os valores das densidades de CO<sub>2</sub> supercrítico em função da temperatura e pressão foram obtidos de Angus *et al.* (1976).

### 3.4.3 Determinação do Rendimento de Extração

O percentual do rendimento obtido foi calculado relacionando a massa total do extrato ( $M_{\text{extrato}}$ ) e a massa da matéria-prima (F), de acordo com a equação 17.

$$x_o = \left( \frac{M_{\text{extrato}}}{F} \right) \times 100 \quad (17)$$

### 3.5 Análises de antioxidantes

O óleo do resíduo de pimenta rosa obtido após a extração e mantido sob congelamento a -18 °C, foi submetido às análises para avaliar a capacidade antioxidante em frente a diferentes solventes. Esses ensaios foram realizados em triplicata.

#### 3.5.1 Determinação de compostos fenólicos totais

A quantidade total de fenóis foi determinada através do reagente Folin-Ciocalteu conforme descrito por Shaghghi *et al.* (2008). Os extratos de óleo foram diluídos em etanol com concentração final de 2,5 mg/mL. A mistura reacional foi composta por 0,5 mL de óleo, 2,5 mL de solução 10% de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich). A solução ficou em repouso e em seguida foram adicionados 2,0 mL de uma solução 7,5% carbonato de sódio (Vetec PA). Os frascos foram agitados e colocados para descansar por 30 min. Em seguida, a absorbância medida a 760 nm em um espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-220).

O conteúdo de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras, frente à curva de calibração construída com o padrão de ácido gálico (Sigma- Aldrich) (concentrações entre 10 a 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), e expresso em miligramas equivalentes de ácido gálico por cem grama de óleo (mgEAG 100  $\text{g}^{-1}$  de óleo).

#### 3.5.2 Determinação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante do óleo de pimenta rosa foi avaliada através do método 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e [2,2-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] (ABTS).

##### a) Método de inibição do radical DPPH

A atividade antioxidante pelo o método DPPH ( $\text{IC}_{50}$ ) foi realizada de acordo com Pereira *et al.* (2010). Foram preparados extratos de óleo nas concentrações entre 0,222 a 0,850  $\text{mg mL}^{-1}$  usando etanol (Anidrol, 99.5% P.A) como solvente. Alíquotas de extrato entre 0,25 a 1,5 mL foram acrescentadas a 2,0 mL de uma solução metanoica de DPPH de concentração 0,046 mg

mL<sup>-1</sup>. A mistura da reação foi mantida na ausência de luz durante 30 min e a absorvância medida a 517 nm em espectrofotômetro (Biospectro, modelo SP-220), contra um branco de metanol (Neon, P.A). Os resultados obtidos foram expressos através do cálculo do IC<sub>50</sub> (concentração de óleo necessária para reduzir o radical DPPH em 50%), sendo que, inicialmente foi calculada a inibição do DPPH (% inibição DPPH) expressa pela Equação 18. Foi construída uma curva dos valores da porcentagem de inibição em função da concentração do óleo. O valor de IC<sub>50</sub> foi encontrado por meio de regressão linear.

$$\text{Inibição DPPH (\%)} = \frac{\text{Abs}_{\text{DPPH}} - \text{Abs}_{\text{óleo}}}{\text{Abs}_{\text{DPPH}}} * 100 \quad (18)$$

Em que: Abs<sub>DPPH</sub> é a absorvância da solução de DPPH; Abs<sub>óleo</sub> é a absorvância da amostra após 30 min de reação com o radical DPPH.

#### b) Método de inibição do radical ABTS

O ensaio de captura de radicais ABTS<sup>•+</sup> foi realizado para a amostra de óleo de pimenta rosa de acordo com o método descrito por Boroski *et al.* (2015). A vitamina E sintética (Trolox) (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 e tetrametilcroman-2-carboxílico, Sigma-Aldrich), foi usada como referência antioxidante. Foi pesado aproximadamente 0,025g de cada amostra de óleo obtida nas extrações, posteriormente, o óleo concentrado foi diluído com etanol em balão volumétrico de 25 mL. O ABTS (Sigma-Aldrich) foi dissolvido em água até concentração de 7,0 mmol L<sup>-1</sup> e submetido à reação com 140 mmol L<sup>-1</sup> de persulfato de potássio (Sigma-Aldrich) para a formação do radical ABTS. A solução de ABTS foi diluída em etanol para absorvância de 0,700 ± 0,050 a 734 nm. As soluções foram preparadas com 30 µL da mistura etanol/óleo nas concentrações de 250, 1200 e 2000 mg mL<sup>-1</sup>, em triplicata. Em seguida, foram adicionados 3 mL de solução ABTS<sup>•+</sup> aos tubos de ensaio e após 6 min a absorvância foi medida. Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente por grama de óleo (µMTEAC g<sup>-1</sup> de óleo). Para encontrar os valores de ABTS, foi preparada a curva de resposta da concentração da solução padrão de Trolox.

### 3.6 Análise dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

As amostras de óleo foram avaliadas através da quantificação de compostos fenólicos por CLAE,  $\alpha$ -tocoferol e identificação de constituintes voláteis, conforme as metodologias descritas a seguir:

#### 3.6.1. Quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A metodologia utilizada foi estabelecida por Santos *et al.* (2017). As amostras de óleo foram preparadas na faixa de concentração entre 100 a 200 mg mL<sup>-1</sup>. Foi utilizado cromatógrafo líquido (Shimadzu) equipado com bomba de gradiente (Shimadzu – DGU-20A) e detector de UV/Vis (Shimadzu – DGU-20A) equipados com coluna Phenomenex Kinetex C18 (4,6 mm × 250 mm × 5  $\mu$ m). O modo de eluição para separação dos compostos fenólicos no CLAE foi o gradiente, conforme ilustrado na Tabela 1.

Tabela 1. Modo gradiente utilizado para eluição dos compostos fenólicos no CLAE.

TEMPO (min)	SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO 0,05 mL/mL (%)	METANOL (%)
1	80	20
10	80	20
65	40	60
70	20	80
75	20	80
78	80	20
80	80	20

A fase móvel foi composta por solução de ácido acético 5% (Grau HPLC, Sigma Aldrich) em água e metanol (Grau HPLC, Sigma Aldrich), o fluxo da fase móvel foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Os fenólicos utilizados como padrão (Grau HPLC, Sigma Aldrich) foram ácido trans-cinâmico (277 nm), ácido trans-ferúlico (322 nm), ácido clorogênico (325 nm), ácido cafeico (320 nm), ácido p-cumárico (309 nm), ácido abscínico (260 nm), ácido gálico (271 nm), e os flavonoides: rutina (244 e 357 nm), isoliquintigenina (371 nm), naringenina (289 nm), biochanina (260 nm) e formononetina (302 nm). A quantificação dos fenólicos foi realizada por meio de curvas de calibração obtidas para cada padrão específico e determinada através da Equação 19 por absorbância registrada em cromatograma nos padrões externos relativos.

$$C_i = \frac{A_i}{A_{st} * C_{st}} \quad (19)$$

Sendo:  $C_i$  a concentração dos composta na amostra;  $A_i$  é a área de pico do composto nos cromatogramas de amostra;  $C_{st}$  a concentração do padrão na solução de referência; e  $A_{st}$  a área do pico de padrão nos cromatogramas de referência (SARAVANAN *et al.*, 2014).

### 3.6.2 Vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol)

A metodologia utilizada foi estabelecida por Freitas *et al.* (2008). As amostras de óleo foram inicialmente pesadas numa faixa de 0,1 g a 0,2 g e diluídas em 1 mL de álcool (2-propanol) grau HPLC (Panreac), logo após armazenadas em vidros âmbar e armazenadas a  $-18^\circ\text{C}$  até a realização das análises. A coluna utilizada foi de fase reversa Phenomenex, fase estacionária C18 (2) 100 Å (150 mm x 4,6 mm x 5µm), a  $30^\circ\text{C}$ . As amostras foram injetadas com volume de 10 µL do óleo. Com fase móvel metanol:água na proporção 96:4 e fluxo de 1,5 mL. O comprimento de onda de absorção do  $\alpha$ -tocoferol (Sigma-Aldrich) foi de 292 nm e o tempo de corrida foi de 8 min. O espectro de absorção e o tempo de retenção do padrão de  $\alpha$ -tocoferol foram utilizados para identificação do  $\alpha$ -tocoferol nas amostras. Os resultados foram expressão em mg 100 g<sup>-1</sup> de óleo.

### 3.6.3 Análise e identificação dos constituintes voláteis

A análise de identificação da composição química do óleo foi feita de acordo com o procedimento inicial realizado na seção 3.6.1. A análise foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas CG-EM (Shimadzu, modelo QP 5050A), utilizando coluna capilar de sílica fundida DB-5 de 30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 µm de filme, com He como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL.min<sup>-1</sup>. A temperatura foi programada mantendo  $50^\circ\text{C}$  por 1,5 min, seguido do aumento de  $4^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$  até atingir  $200^\circ\text{C}$ , depois a  $10^\circ\text{C}$  até atingir  $250^\circ\text{C}$  mantendo constante está temperatura por 5 min.; a temperatura do injetor de  $250^\circ\text{C}$  e temperatura do detector (ou interface) de  $280^\circ\text{C}$ ; foi injetado volume de 0,5 µL em acetato de etila (Vetec); taxa de partição do volume injetado de 1:87 e pressão na coluna de 64,20 kPa. As condições do EM foram detector de íons do tipo quadrupolo operando por iMPacto eletrônico

e energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura 1,000; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos.s<sup>-1</sup> e fragmentos detectados na faixa de 40 a 500 Da.

A identificação dos constituintes voláteis foi realizada com base na comparação dos índices de retenção (ADAMS, 2007). Para o cálculo do índice de retenção (IR) foi utilizado a equação de Van den Doll e Kratz (1963) em relação a série homóloga de n-alcenos (nC9- nC18). Também foram utilizadas três bibliotecas do equipamento WILEY8, NIST107 E NIST21 que permite a comparação dos dados dos espectros com aqueles constantes das bibliotecas utilizando índice de similaridade de 80%.

### 3.7 Planejamento experimental fatorial da extração fluido supercrítico (SFE) e análise estatística

De maneira a analisar a influência das variáveis de processo nas extrações por fluido supercrítico de pimenta rosa, foram aplicados planejamento experimental fatorial com dois níveis e três fatores (variáveis de entrada) com réplicas no ponto central. Foram avaliadas as variáveis de entrada: pressão (P), temperatura (T), vazão do solvente (Q<sub>CO2</sub>) e concentração de isopropanol (CI); e as variáveis de saída (respostas): rendimento (X<sub>0</sub>), compostos fenólicos (FT) e atividade antioxidante (DPPH e ABTS).

As Tabelas 2 e 3 apresentam as condições experimentais do planejamento experimental fatorial aplicado com as respectivas variáveis de entrada e níveis normalizados.

Tabela 2. Variáveis de entrada (P, T e Q<sub>CO2</sub>) e respectivos níveis para a SFE/CO<sub>2</sub>.

EXPERIMENTO	VARIÁVEIS DE ENTRADA			VARIÁVEIS NORMALIZADAS		
	T (°C)	P (MPa)	Q <sub>CO2</sub> (mL min <sup>-1</sup> )	T	P	Q <sub>CO2</sub>
01	20	15	2	-1	-1	-1
02	60	15	2	+1	-1	-1
03	20	25	2	-1	+1	-1
04	60	25	2	+1	+1	-1
05	20	15	4	-1	-1	+1
06	60	15	4	+1	-1	+1
07	20	25	4	-1	+1	+1
08	60	25	4	+1	+1	+1
09	40	20	3	0	0	0
10	40	20	3	0	0	0
11	40	20	3	0	0	0

Tabela 3. Variáveis de entrada (P, T e CI) e respectivos níveis para a SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O

EXPERIMENTO	VARIÁVEIS DE ENTRADA			VARIÁVEIS NORMALIZADAS		
	T (°C)	P (MPa)	CI (%)	T	P	CI
01	20	15	2	-1	-1	-1
02	60	15	2	+1	-1	-1
03	20	25	2	-1	+1	-1
04	60	25	2	+1	+1	-1
05	20	15	6	-1	-1	+1
06	60	15	6	+1	-1	+1
07	20	25	6	-1	+1	+1
08	60	25	6	+1	+1	+1
09	40	20	4	0	0	0
10	40	20	4	0	0	0
11	40	20	4	0	0	0

Foram empregadas três condições distintas durante a extração com CO<sub>2</sub> supercrítico puro: temperatura, pressão e vazão do solvente. Para a extração com CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O foi fixada a vazão do solvente em 4 mL min<sup>-1</sup> e avaliadas as influências da temperatura, pressão e concentração de isopropanol. Com os resultados obtidos nas condições experimentais, foi verificado como cada variável de entrada estudada (P, T, Q<sub>CO2</sub> e CI) influenciaram as variáveis de saída (X<sub>0</sub>, FT, DPPH e ABTS).

Os parâmetros foram estimados pelo software Statistica 8.0 (Statsoft Inc., USA), através de modelo não linear com três interações.

### 3.8 Estudo da cinética de extração

Depois de selecionadas as condições operacionais da SFE segundo os critérios pré-estabelecidos: pressão, temperatura, vazão do solvente e concentração de isopropanol, o experimento cinético foi realizado no ponto central do planejamento experimental fatorial. No decorrer do processo de extração, a massa de óleo foi coletada no frasco coletor e pesada em balança analítica de forma acumulativa nos intervalos de tempo pré-determinados (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 min). Ao final do processo de extração, as curvas globais de extração (OEC) foram construídas com a finalidade de determinar a quantidade de material solúvel extraído (rendimento) em função do tempo.

### 3.8.1 Modelos matemáticos

Os modelos matemáticos de Tan e Liou (1989), Esquível (1999) e Martínez *et al.* (2003) foram aplicados aos dados experimentais da SFE. Os ajustes dos modelos foram feitos através dos softwares *Statistica 8.0* (Statsoft Inc., USA) e GAMS (General Algebraic Modelling System) versão 145x86/MS Windows, utilizando o solver CONOPT (Continuous Optimizer).

A aplicação das curvas experimentais exige algumas séries de parâmetros de processo que devem ser obtidos experimentalmente ou estimados. Os dados necessários para a estimação do modelo de Martínez *et al.* (2003) são: o rendimento global ( $X_0$ ) e a massa de matéria-prima usada ( $m$ ). Para o modelo de Tan e Liou (1989), são necessários os parâmetros: porosidade do leito ( $\varepsilon$ ), rendimento global ( $X_0$ ), densidade do sólido ( $\rho_s$ ), densidade do solvente ( $\rho$ ), área transversal do extrator ( $S$ ), vazão mássica do solvente ( $m_F$ ) e comprimento total do leito ( $H$ ). Enquanto que para o modelo de Esquível (1999), é necessário apenas o rendimento global ( $X_0$ ) como parâmetro. Os parâmetros ajustados para cada modelo foram os seguintes:

- a) Modelo de Tan e Liou (1989):  $k_d$  é a constante da taxa de dessorção ( $s^{-1}$ );
- b) Modelo de Esquível (1999):  $b$  é o parâmetro ajustável do modelo (s);
- c) Modelo de Martínez *et al.* (2003),  $b_i$  ( $min^{-1}$ ) e  $t_m$  (min), são parâmetros ajustáveis do modelo.

### 3.8.2 Função objetivo

Os parâmetros de cada modelo matemático foram ajustados mediante o valor do erro da soma quadrática (ERRSQ) e erro médio relativo ( $E_m$ ). A função objetivo utilizada na estimação dos parâmetros, Equação 20, representa o erro da soma quadrática.

$$ERRSQ = \sum_{i=1}^n \left( m_{\text{óleo}_i}^{\text{calc}} - m_{\text{óleo}_i}^{\text{exp}} \right)^2 \quad (20)$$

Em que:  $m_{\text{óleo}_i}^{\text{exp}}$  é a massa de óleo extraída (g) em determinado tempo  $t$  (min);  $m_{\text{óleo}_i}^{\text{calc}}$  é a massa de óleo calculada pelo modelo cinético; e  $n$  é número de dados experimentais. A validade do ajuste dos modelos cinéticos utilizados foi avaliada a partir do erro médio relativo ( $E_m$ ) calculados pela Equação 20.

$$E_m = \frac{1}{n} \sum_i \left( \frac{m_{\text{óleo}_i}^{\text{calc}} - m_{\text{óleo}_i}^{\text{exp}}}{m_{\text{óleo}_i}^{\text{exp}}} \right) \quad (21)$$

Os parâmetros cinéticos foram analisados estatisticamente através dos softwares *Statistica 8.0* (Statsoft Inc., USA) e GAMS (General Algebraic Modelling System) versão 145x86/MS Windows, utilizando o solver CONOPT (Continuous Optimizer).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da caracterização físico-química do resíduo da pimenta rosa, em composição centesimal, são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Composição centesimal do resíduo da pimenta rosa.

Análises	Resultados*
Umidade (%)	3,50 ± 0,07
Acidez (%)	0,34 ± 0,03
Cinzas (%)	1,01 ± 0,02
Matéria Orgânica (%)	98,9 ± 0,01
Lipídeos (%)	4,10 ± 0,02
Proteínas (%)	4,72 ± 0,01

\*Dados expressos como médias ± desvio padrão, de três repetições.

Segundo Dourado (2012), o teor de umidade de frutos verdes de pimenta rosa foi de 70,40 % e da pimenta rosa madura de 34,05 %, sendo que neste estudo o valor foi de 3,5 %. É importante destacar que esta perda de umidade se deve ao fato do resíduo ter passado por secagem solar. Já para o teor de cinzas foi de 1,01 %, próximo ao valor encontrado por Dourado (2012) para frutos verdes que foi de 1,22 %. Ressaltando que nem sempre este resíduo representa toda a substância inorgânica presente na amostra, que segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008), alguns sais podem sofrer redução ou volatilização no aquecimento a esta temperatura (600°C), alterando o valor de cinzas.

### 4.1 Determinação do rendimento global

Os extratos obtidos a partir do resíduo da pimenta rosa usando o método de extração com Soxhlet apresentou coloração amarela e odor agradável, sendo que o maior rendimento obtido foi utilizando o metanol. Este resultado pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5. Rendimento do óleo do resíduo da pimenta rosa via extração por Soxhlet (ES) e extração com fluido supercrítico (SFE).

MÉTODO	SOLVENTE	P (MPa)	T (°C)	QCO <sub>2</sub> (mL min <sup>-1</sup> )	CI (%)	Densidade de CO <sub>2</sub> (g cm <sup>-3</sup> )	X <sub>0</sub> (%)
ES	Metanol	0,1	25	-	-	-	28,62
	Etanol	0,1	25	-	-	-	16,13
	Hexano	0,1	25	-	-	-	6,61
SFE	CO <sub>2</sub>	15	20	2	-	0,9044	1,73
		15	60	2	-	0,6054	1,25
		25	20	2	-	0,9588	2,49
		25	60	2	-	0,7531	3,13
		20	40	3	-	0,8406	2,98*
		25	20	4	-	0,9588	3,51
		25	60	4	-	0,7531	4,25
		15	20	4	-	0,9044	5,26
		15	60	4	-	0,6054	1,61
		SFE	CO <sub>2</sub> + C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	15	20	-	2
15	60			-	2	0,6054	3,07
25	20			-	2	0,9588	6,08
25	60			-	2	0,7531	16,97
20	40			-	4	0,8406	7,48*
25	20			-	6	0,9588	5,78
25	60			-	6	0,7531	10,3
15	20			-	6	0,9044	4,76
15	60			-	6	0,6054	5,67

\*Valor expresso em média

A extração com Soxhlet apresentou rendimento superior ao obtido no processo com fluido supercrítico, pois a temperatura de operação no reciclo do solvente e nas interações entre o solvente e matriz vegetal, característicos da extração, pode contribuir para maior solubilização de compostos, de diferentes classes, elevando assim o rendimento da extração (ANDRADE *et al.*, 2014).

A diferença observada entre os resultados dos três solventes (metanol, etanol e hexano) é justificada pela polaridade dos solventes empregados, sugerindo a predominância de compostos polares nos extratos de pimenta rosa, mais facilmente solubilizados pelo metanol, comparado com o etanol.

Os resultados da extração supercrítica, apresentados da Tabela 5 indicam o valor máximo de rendimento de 5,26 % foi obtido a temperatura de 20°C, pressão de 15 MPa e vazão de 4 mL min<sup>-1</sup> com massa específica de solvente de 0,9044 g cm<sup>-3</sup>, enquanto o menor rendimento foi de 1,25 % a temperatura de 60°C, pressão de 15 MPa e vazão de 2,0 mL min<sup>-1</sup>, com massa específica de solvente de 0,6054 g cm<sup>-3</sup>. De acordo com Andrade *et al.* (2014), o

aumento da massa específica do solvente com a pressão, aumenta o poder de solvatação do CO<sub>2</sub>, com isso pode-se gerar rupturas na matriz vegetal e facilitar a liberação de compostos que não estavam disponíveis em pressões mais baixas, aumentando desta forma os compostos solubilizáveis e, conseqüentemente, o rendimento.

Em alguns casos, pode-se observar que mesmo com a diminuição na massa específica do CO<sub>2</sub>, há aumento do rendimento, nota-se, neste caso, que o aumento da temperatura favorece mais a influência da pressão de vapor do soluto na solubilidade dos compostos em relação à densidade do CO<sub>2</sub> (ARAUCO, 2013).

Comparando os rendimentos obtidos pelo CO<sub>2</sub> supercrítico com os resultados obtidos por extração convencional (Soxhlet), observa-se que as extrações usando metanol como solvente produziram valores de rendimento superiores aos alcançados pela extração supercrítica. Esses resultados podem ser explicados pela extração de compostos mais polares, não solúveis em CO<sub>2</sub>. Além disso, não só a solubilidade de certos componentes aumenta com o uso de metanol, mas também o número de componentes solubilizados por este solvente, o que reduz a seletividade do processo e aumenta o rendimento (PEREIRA E MEIRELES, 2010).

Visando melhorar os resultados da extração supercrítica com CO<sub>2</sub> puro e avaliar a qualidade do óleo, empregou-se isopropanol como cossolvente no processo de extração supercrítica. A adição de um cossolvente ao processo de extração supercrítica elevou o rendimento nos experimentos. Este comportamento se dá pelo aumento do número de compostos solúveis na mistura, ocasionando redução da seletividade e aumento do rendimento do processo. Tais resultados indicaram a influência da polaridade dos solventes utilizados no rendimento do óleo extraído, devido à matriz vegetal em questão ser rica em compostos polares como ácidos fenólicos. Segundo Barwick (1997), a polaridade pode ser definida como a habilidade da molécula em participar de interações de todas as espécies (por pontes de hidrogênio, interações do tipo dipolo e forças de dispersão) com outras moléculas polares. A temperatura de operação, o reciclo do solvente e as interações entre solvente e soluto contribuem para a dissolução do material vegetal.

Como pode ser observado na Tabela 5, o aumento do rendimento da extração foi verificado para todas as razões mássicas de isopropanol utilizadas. Este comportamento deve-se a maior solubilização de compostos polares na mistura isopropanol/CO<sub>2</sub>, o que não ocorre quando se utiliza o CO<sub>2</sub> puro, reduzindo assim a seletividade do processo, aumentando o rendimento. A adição de modificadores à extração supercrítica tem sido utilizada por diversos autores, seja buscando o aumento do rendimento da extração, a melhora no potencial

antioxidante dos extratos, ou ambos os efeitos (MAZZUTTI et al, 2012; ANDRADE et al, 2012; OLIVEIRA et al, 2013; BENELLI et al, 2014).

#### 4.2 Compostos fenólicos

As concentrações de compostos fenólicos totais (FT) nas amostras de óleo obtidos de resíduo de pimenta rosa através das extrações por Soxhlet e SFE estão expressos na Tabela 6.

Tabela 6. Concentração de fenóis totais (FT) no óleo de resíduo de pimenta rosa via extração por Soxhlet (ES) e extração com fluido supercrítico (SFE).

MÉTODO	SOLVENTE	P (MPa)	T (°C)	QCO <sub>2</sub> (mL min <sup>-1</sup> )	CI (%)	Densidade de CO <sub>2</sub> (g cm <sup>-3</sup> )	FT (mgEAG de 100 g <sup>-1</sup> de óleo)
ES	Metanol	0,1	25	-	-	-	1424,85 ± 0,57
	Etanol	0,1	25	-	-	-	616,64 ± 0,32
	Hexano	0,1	25	-	-	-	174,74 ± 0,26
SFE	CO <sub>2</sub>	15	20	2	-	0,9044	51,67 ± 0,06
		15	60	2	-	0,6054	30,37 ± 0,02
		25	20	2	-	0,9588	78,53 ± 0,05
		25	60	2	-	0,7531	101,54 ± 0,06
		20	40	3	-	0,8406	68,72 ± 0,49
		15	20	4	-	0,9044	143,26 ± 0,18
		15	60	4	-	0,6054	40,42 ± 0,06
		25	20	4	-	0,9588	74,90 ± 0,49
		25	60	4	-	0,7531	78,13 ± 0,30
		SFE	CO <sub>2</sub> + C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	15	20	-	2
15	60			-	2	0,6054	79,19 ± 0,06
25	20			-	2	0,9588	194,83 ± 0,12
25	60			-	2	0,7531	225,92 ± 0,14
20	40			-	4	0,8406	164,07 ± 0,40
15	20			-	6	0,9044	238,43 ± 0,09
15	60			-	6	0,6054	145,27 ± 0,39
25	20			-	6	0,9588	186,47 ± 0,11
25	60			-	6	0,7531	268,67 ± 0,20

Valores expressos em média e ± desvio padrão

Embora os compostos fenólicos sejam os principais responsáveis pela atividade antioxidante de produtos naturais, a determinação destes pelo método de Folin-Ciocalteu, expressa em termos de teor de ácido gálico presente na amostra não caracteriza completamente a atividade antioxidante, representando apenas estimativa desta propriedade (ANDRADE *et al.*, 2017).

A concentração de compostos fenólicos totais dos extratos foi 1424,85 ± 0,57 para metanol, 616,64 ± 0,32 para etanol e 174,74 ± 0,26 para hexano (mg de EAG/100 g da amostra).

De acordo com os valores encontrados, o extrato metanólico foi o que apresentou maior teor de compostos fenólicos para o método de extração com Soxhlet. Isso possivelmente deve-se à sua afinidade do solvente (metanol) com os compostos fenólicos, pois estes possuem alta polaridade. Em geral, os extratos lipídicos obtidos com solventes não polares, como o hexano, apresentam baixos valores de compostos fenólicos, principalmente devido à alta polaridade desses compostos (BENDAOU, 2010).

Os valores de fenóis totais encontrados através dos óleos, por SFE com CO<sub>2</sub> puro e com cossolvente, mostraram que, as condições onde foram aplicados os valores de menor pressão e maior temperatura (15 MPa e 60°C), resultaram em menor concentração de compostos fenólicos totais. Em contrapartida, na extração por SFE com CO<sub>2</sub> na condição de menor pressão e temperatura (15 MPa/20°C), a concentração desses compostos foi maior. Para a extração por SFE com CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O o melhor resultado foi na condição (25 MPa e 60°C). Considera-se que a elevação da pressão desempenhou papel importante na extração de compostos fenólicos, este efeito deve-se ao aumento da densidade e ao poder de solvatação do solvente, o que, conseqüentemente, aumenta a solubilidade da amostra no CO<sub>2</sub>.

Andrade *et al.*, (2017), estudaram a extração de óleo de pimenta rosa por SFE com CO<sub>2</sub> e utilizaram etanol como cossolvente, observaram que a maioria dos óleos supercríticos apresentou resultados semelhantes e a adição do cossolvente favoreceu a extração de compostos fenólicos. O maior valor do teor de compostos fenólicos totais entre os extratos obtidos na extração com adição de cossolvente (15 MPa e 50°C) foi de  $46 \pm 3$  mg EAG g<sup>-1</sup> de extrato, obtido na condição de 15 MPa, 50°C e concentração de 5% de etanol.

### 4.3 Atividade antioxidante do óleo

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada pelo método de DPPH que avalia a capacidade de capturar o radical livre. Os resultados obtidos estão expressos como concentração final do extrato necessário para inibir a oxidação do radical DPPH em 50% ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), como mostra a Tabela 7.

Tabela 7. Resultados da atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS do óleo de resíduo de pimenta rosa obtida via ES e SFE.

MÉTODOS	SOLVENTE	P (MPa)	T (°C)	QCO <sub>2</sub> (mL.min <sup>-1</sup> )	CI (%)	IC <sub>50</sub> <sup>(1)</sup> (µg mL <sup>-1</sup> )*	ABTS (µMTEAC de óleo)* g <sup>-1</sup>
ES	Metanol	0,1	25	-	-	125,82 ± 0,06	68,25 ± 0,003
	Etanol	0,1	25	-	-	524,95 ± 1,93	44,25 ± 0,002
	Hexano	0,1	25	-	-	741,70 ± 1,70	27,69 ± 0,003
SFE	CO <sub>2</sub>	15	20	2	-	470,63 ± 0,58	35,53 ± 0,004
		15	60	2	-	498,53 ± 0,10	30,95 ± 0,006
		25	20	2	-	473,99 ± 0,31	31,22 ± 0,006
		25	60	2	-	452,50 ± 0,16	33,72 ± 0,001
		20	40	3	-	458,22 ± 1,93	32,90 ± 0,004
		15	20	4	-	458,35 ± 0,12	32,35 ± 0,005
		15	60	4	-	899,23 ± 0,05	32,77 ± 0,005
		25	20	4	-	556,20 ± 0,63	33,02 ± 0,002
		25	60	4	-	532,92 ± 0,13	33,98 ± 0,005
		SFE	CO <sub>2</sub> + C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	15	20	-	2
15	60			-	2	438,06 ± 0,14	28,32 ± 0,005
25	20			-	2	463,62 ± 0,47	28,79 ± 0,005
25	60			-	2	440,17 ± 0,33	28,54 ± 0,003
20	40			-	4	432,70 ± 0,06	28,62 ± 0,005
15	20			-	6	449,15 ± 0,14	28,43 ± 0,002
15	60			-	6	408,68 ± 0,18	28,15 ± 0,004
25	20			-	6	471,41 ± 0,35	28,23 ± 0,004
25	60			-	6	468,02 ± 0,03	28,82 ± 0,002

<sup>(1)</sup>IC<sub>50</sub> pelo o método DPPH

\* Média da triplicata ± desvio padrão.

Entre os extratos avaliados, o obtido através da extração com Soxhlet com metanol apresentou maior atividade antioxidante, superior ao valor determinado para o fluido supercrítico. Neste caso, o valor de IC<sub>50</sub> foi de 125,82 µg mL<sup>-1</sup>, o que caracteriza o forte potencial antioxidante da amostra. Segundo Campos *et al.* (2008), valores de IC<sub>50</sub> abaixo de 250 µg mL<sup>-1</sup> são considerados de alto potencial antioxidante.

Com base nos resultados da Tabela 7, pode-se observar o incremento da atividade antioxidante com o aumento da polaridade dos solventes utilizados. Este resultado está compatível quando comparado a Andrade *et al.* (2017) que encontraram valores de IC<sub>50</sub> para o método de Soxhlet utilizando etanol como solvente acima de 1000 µg mL<sup>-1</sup>. Normalmente os maiores percentuais de atividade antioxidante são relacionados à maior polaridade do solvente empregado na extração.

Os resultados para atividade antioxidante das amostras obtidas por extração supercrítica mostram que houve pequena variação com as mudanças na densidade do solvente. Em geral, os extratos oleosos obtidos por solventes não polares como o CO<sub>2</sub> apresentaram baixa

atividade antioxidante e compostos fenólicos, principalmente devido à polaridade desses compostos (MAZZUTTI *et al.*, 2017).

Observando a Tabela 7, o extrato de pimenta rosa que apresentou o maior valor de IC<sub>50</sub> foi na condição de temperatura de 60°C, pressão de 25 MPa e vazão de 2,0 mL min<sup>-1</sup>. Os resultados encontrados para a inibição de 50 % dos radicais livres (IC<sub>50</sub>) é inversamente proporcional a concentração de compostos fenólicos totais. Estando equiparados com os resultados obtidos por Andrade *et al.*, (2017), que encontraram valores de IC<sub>50</sub> superior a 1000 µg mL<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos para a atividade antioxidante das amostras de óleo de pimenta rosa, utilizando o método ABTS, são apresentados na Tabela 7. Nesse método, foi observado que as extrações por Soxhlet utilizando o metanol como solvente 68,25 ± 0,003 µMTEAC g<sup>-1</sup> de óleo, proporcionou o melhor valor de atividade antioxidante. Este resultado mostra a afinidade do solvente de alta polaridade com os compostos antioxidantes presentes nas pimentas rosas. Embora o hexano seja apolar, esse apresentou atividade antioxidante em ambas as técnicas de extração. De acordo com Pereira *et al.* (2017), o método do ABTS permite ser aplicado em sistemas contendo compostos antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos. Desta forma, é possível que as amostras de óleo obtidas por solventes não polares, como hexano e o CO<sub>2</sub>, contenham substâncias antioxidantes.

O óleo obtido pela extração SFE/CO<sub>2</sub>, a 15 MPa, 20°C e 2 mL min<sup>-1</sup> forneceu o maior valor de ABTS (35,53 ± 0,004 µMTEAC g<sup>-1</sup> de óleo). Andrade *et al.* (2017) obtiveram 342,00 µMTEAC g<sup>-1</sup> na extração de óleo de pimenta rosa usando a extração supercrítica com CO<sub>2</sub> na condição de 15 MPa e 60 °C.

A condição mais extrema de pressão, temperatura e concentração de isopropanol (25 MPa/60°C/6%) na SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O, correspondeu à maior atividade antioxidante 28,82 ± 0,002 µMTEAC g<sup>-1</sup> de óleo. Essa condição gerou melhor solubilização dos compostos antioxidantes pelo método ABTS em relação às outras condições.

Em relação à extração supercrítica, não foi observada tendência de redução ou aumento da atividade antioxidante em função da temperatura no método ABTS. Uma hipótese que justifique esse comportamento é a de que em função de cada condição experimental, diferentes compostos sejam extraídos, tendo como consequência a variação no potencial antioxidante do extrato. Como não foi observada a redução da atividade antioxidante com o aumento da temperatura acredita-se que os compostos responsáveis pela atividade antioxidante não sofrem degradação térmica a 60°C (HU; HU; XU, 2005).

## 4.4 Composição química do óleo

### 4.4.1 Quantificação dos compostos fenólicos por CLAE

A identificação e a composição dos compostos fenólicos obtidos no óleo das extrações por Soxhlet e extração com fluido supercrítico, foram realizadas mediante utilização de cromatografia líquida de alta eficiência. Somente algumas amostras foram selecionadas, levando em consideração os maiores rendimentos globais (seção 4.2). Assim, o óleo extraído por ES utilizando o solvente metanol e o óleo da SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O na condição 15 MPa/20°C/4 mL min<sup>-1</sup> e 25 MPa/60°C/6%, respectivamente, foram selecionados.

Neste trabalho, 5 compostos fenólicos, incluindo 1 tocoferol ( $\alpha$  – Tocoferol), 3 ácidos fenólicos (ácido trans cinâmico, ácido gálico e ácido p-cumarico) e 1 flavonoide (quercetina), foram simultaneamente identificados no óleo de pimenta rosa, conforme mostra a Tabela 8.

Tabela 8. Conteúdo de fenólicos totais identificados pela análise de CLAE no óleo obtido por ES, SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O.

COMPOSTOS (mg 100 g <sup>-1</sup> de óleo)	EXTRAÇÃO		
	ES	SFE/CO <sub>2</sub>	SFE/CO <sub>2</sub> + C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O
$\alpha$ – Tocoferol	1,8306	1,487	NI
Ác. Trans cinâmico	0,8743	NI	NI
Ác. P-cumarico	0,3828	0,6421	0,1640
Ác. Gálico	1,2241	NI	NI
Quercetina	NI	NI	0,1841

NI – Não Identificado

O óleo extraído por Soxhlet apresentou maior diversidade de compostos fenólicos em relação ao extraído da SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. Isto ocorre, pois, a presença do metanol afeta positivamente na quantificação de fenólicos, devido ao fato de que a polaridade do solvente utilizado está relacionada com as interações covalentes (ligação de hidrogênio) e dipolo-dipolo que aumentam a solubilidade de compostos fenólicos. No entanto, o elevado teor de tocoferol encontrado no óleo da SFE/CO<sub>2</sub> aumentou a concentração de fenóis totais determinados através do reagente Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante, isso deve-se ao fato do CO<sub>2</sub> ser o solvente supercrítico apropriado para a extração de compostos bioativos como tocoferóis, terpenoides e sitosteróis.

O  $\alpha$ -tocoferol, também conhecido como vitamina E, foi encontrado no óleo extraído nas condições estudadas de ES e SFE/CO<sub>2</sub>. Esse antioxidante auxilia na redução do estresse oxidativo e tem aumentado a redução à resistência à oxidação do LDL. Outros estudos

identificaram em espécies de *Schinus terebinthifolius Raddi* compostos fenólicos diferentes aos encontrados nesse trabalho (GOMES *et al.* 2017; MEDINA *et al.* 2017).

Li *et al.* (2011) relataram que o ácido gálico apresenta benefícios como: atividade antimicrobiana, antioxidante, propriedades anti-inflamatória, antialérgicas, anticancerígenas e antiviral. Perante os benefícios relatados acima, o conteúdo alcançado neste trabalho faz com que a resíduo da pimenta rosa seja fonte promissora destes compostos.

#### 4.4.2 Identificação dos constituintes voláteis

A composição do óleo de pimenta rosa obtida por cromatografia gasosa é apresentada na Tabela 9. Para a análise, foram selecionados os óleos extraídos com fluido supercrítico. Somente algumas amostras foram selecionadas, levando em consideração os maiores rendimentos globais. Assim, foram selecionadas as amostras de óleo da SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O nas condições 15 MPa/20°C/4 mL min<sup>-1</sup> e 25 MPa/60°C/2%, respectivamente.

Tabela 9. Composição do óleo de pimenta rosa obtidos por SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O.

Composto	SFE/CO <sub>2</sub>	SFE/CO <sub>2</sub> + C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O
	% GC-MS	% GC-MS
α-pineno	4.72	2.26
β-pineno	9.96	5.20
δ-3-careno	4.47	1.41
Limoneno	10.23	2.67
Pinocarvona	1.08	1.33
m-cimen-8-ol	NI	1.35
p-cimen-8-ol	1.53	1.05
Mirtenal	NI	1.09
Verbenona	0.97	0.80
Acetato de isobornila	2.71	2.09
p-vinil guaiacol	0.90	0.92
δ-elemeno	1.63	1.46
β-iangleno	2.47	2.65
β-copaeno	1.67	1.73
germacreno-D	14.42	14.16
δ-cadineno	1.02	1.04
Elemol	19.48	20.74
Óxido decariofileno	NI	2.22
Alo aromadrendeno epoxido	4.27	5.50
Ac. Hexadecanóico	NI	1.60
Ac. Linoleico	3.58	3.96
Cis-óxido de limoneno	1.04	NI
Mirtenol	1.42	NI
10-epi-γ-eudesmol	1.30	NI
β-eudesmol	5.13	NI

NI – Não Identificado

Na análise cromatográfica do óleo essencial dos óleos de pimenta rosa foram identificados 25 compostos, sendo o componente majoritário o elemol e germacreno-D para as extrações por SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O, conforme Tabela 9. Isso permitiu verificar que esse óleo apresenta teor de álcoois, fenóis e aldeídos, além de terpenos (α e β pinenos e limonenos), o que infere o potencial antimicrobiano e antioxidante. Estes mesmos elementos foram encontrados em trabalhos realizados por (Novacosk e Torres, 2006; Souza *et al.*, 2005; Bertoldi, 2006), os quais citam que devido à riqueza química em fenóis, aldeídos e álcoois, os óleos essenciais apresentam propriedades antissépticas.

Estudo realizado por Andrade (2017) identificou β-pineno, δ-cadineno, epi-α-muurolol e α-cadinol como compostos majoritários presentes no óleo essencial obtido dos frutos verdes de *Schinus terebinthifolius*. Observa-se que a composição química de óleo essencial extraído

com SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O podem variar significativamente. De modo geral, a frequente variação química de óleos essenciais, é devido à alta complexidade química dos óleos, que sofrem influência de vários fatores, tanto geográficos e ecológicos (habitat), quanto pelo solvente utilizado na extração variabilidade, que está diretamente ligada com a qualidade dos óleos essenciais (ROVEDA *et al.*, 2010).

O ácido linoleico é o ácido graxo presente no fruto de pimenta rosa o qual é conhecido como ômega-6, desempenha importantes funções na manutenção das membranas celulares, funções cerebrais e da transmissão de impulsos nervosos. Este óleo pode ser empregado, por exemplo, na produção de margarinas, que são consumidas sem tratamento térmico e, por isso, menos suscetíveis à oxidação, além disso, poderá ser avaliado como base para a produção de cosméticos e medicamentos.

#### 4.5 Modelos cinéticos matemático

As cinéticas das extrações por SFE, utilizando CO<sub>2</sub> puro e isopropanol como cossolvente, puderam ser caracterizadas pela quantidade correspondente à massa de óleo em relação ao tempo, Figura 7 e Figura 8. As estimações de parâmetros dos modelos cinéticos de Martínez (2003), Ezquível (1999) e Tan e Liou (1989) foram implantadas na curva cinética na condição central do experimento.

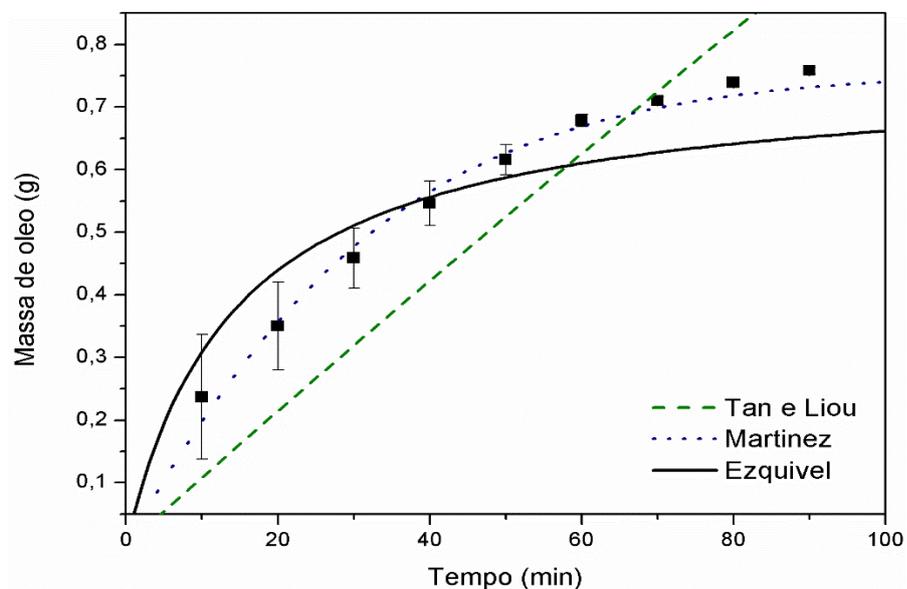


Figura 7 - Curva global da massa de óleo (g) por tempo de extração (min) via SFE a 20 MPa, 40°C e 3 mL min<sup>-1</sup> utilizando CO<sub>2</sub> puro.

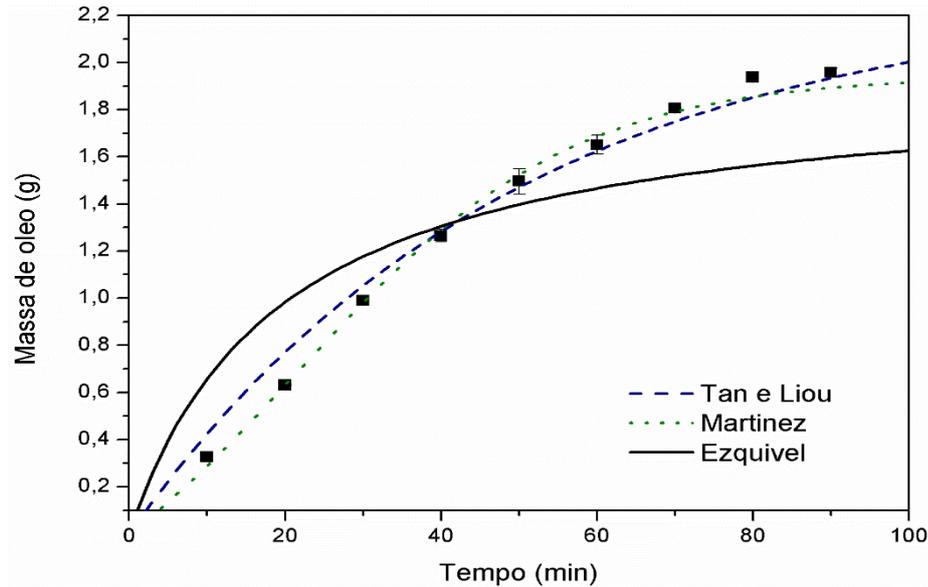


Figura 8 - Curva global da massa de óleo (g) por tempo de extração (min) via SFE a 20 MPa, 40 °C e 4% utilizando  $\text{CO}_2 + \text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ .

O conjunto de dados para o modelo Martinez *et al.* (2003), Tan e Liou (1989) e Ezquivel (1999) estão listados na Tabela 10, e os parâmetros ajustáveis para os modelos de Martínez *et al.* (2003), Tan e Liou (1989) e Ezquivel (1999) estão listados na Tabela 11.

Tabela 10. Dados utilizados para estimação dos parâmetros dos modelos de Martinez *et al.* (2003), Tan e Liou (1989) e Ezquivel (1999) – Extração supercrítica.

Parâmetros	Valores
Altura (cm)	19,4
Diâmetro (cm)	1,95
Área (cm <sup>2</sup> )	2,98
Porosidade ( $\epsilon$ )	0,8034
Densidade do solvente (g/cm <sup>3</sup> )	0,9044
Densidade do sólido (g/cm <sup>3</sup> )	1,4094
Vazão mássica do solvente (ml/min)	3,6177
Concentração inicial do óleo ( $x_0$ )	0,0493

Tabela 11. Parâmetros determinados dos modelos Martinez *et al.* (2003), Tan e Liou (1989) e Ezquivel (1999).

MODELO	PARÂMETRO AJUSTADO	SFE/ $\text{CO}_2$	SFE / $\text{CO}_2 + \text{C}_3\text{H}_8\text{O}$
Martínez <i>et al.</i> (2003)	$b_i$ (min <sup>-1</sup> )	0,0415	0,0564
	$t_m$ (min)	-19,0985	21,4413
	$r^2$	0,9996	0,9996
	$E_m$	-0,0102	-0,0146
Esquivel (1999)	$b$ (s)	14,4769	19,5577
	$r^2$	0,8849	0,8732
	$E_m$	-0,3011	-0,3029
Tan e Liou (1989)	$k_d$	0,0013	0,0203
	$r^2$	0,8910	0,8998
	$E_m$	0,0810	0,0081

Quanto menor o valor de  $E_m$  e maior o valor de  $r^2$ , melhor o modelo representa os dados experimentais. Diante disso, o modelo de Martínez *et al.* (2003) foi o que apresentou melhor ajuste aos dados experimentais (Exp) para as condições operacionais utilizadas, com menor erro médio relativo ( $E_m = -0,0102$  e  $-0,0146$  para SFE/CO<sub>2</sub> e SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O, respectivamente). Os modelos de Tan e Liou (1989) e Esquível (1999) não se ajustaram ao comportamento cinético.

As curvas cinéticas experimentais usadas para estimar os modelos cinéticos apresentaram tempos diferentes na fase CER, sendo observado que, para a SFE utilizando o CO<sub>2</sub> puro e SFE utilizando CO<sub>2</sub> com isopropanol, a taxa de extração foi maior nos primeiros 50 min, depois ambas sofreram redução até atingir o equilíbrio. Para o modelo de Martínez *et al.* (2003), esse comportamento está associado à concentração dos componentes no extrato ao longo da extração, alguns componentes presentes na pimenta rosa são esgotados com o decorrer do tempo, enquanto outros iniciam o seu processo de extração. O parâmetro  $t_m$  foi negativo. Segundo Pessoa *et al.* (2015) este parâmetro indica o tempo em que a taxa de extração está no seu máximo, os valores negativos indicam que a taxa de extração está diminuindo desde o início ( $t = 0$ ).

O rendimento da extração em função do tempo no modelo de Esquível (1999) mostrou que o coeficiente  $b$  exibiu tempos diferentes nas extrações dos compostos de interesse (34,40 e 18,40 s para a SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O e SFE/CO<sub>2</sub>, respectivamente). O parâmetro estimado ( $b$ ), depende da temperatura e pressão, como as pressões de ambas cinéticas de extrações foram as mesmas, o fator que provavelmente contribuiu para maior taxa de extração na SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O foi a temperatura, pois, o aumento da temperatura favorece no aumento da solubilidade do soluto extraído, ocasionando maiores rendimentos.

O modelo de Tan e Liou (1989) não obteve bom comportamento cinético. Pôde-se observar o maior valor do erro médio relativo, em contrapartida, o segundo maior valor do coeficiente de determinação foi encontrado para este modelo. Durante o processo de extração, este é controlado unicamente pela difusão, a qual depende da distribuição do soluto na matriz sólida e das condições operacionais do processo. A constante de dessorção ( $k_d$ ) apresentou praticamente o mesmo resultado para ambas extrações, isto é resultante das condições operacionais utilizadas para a estimação deste modelo serem semelhantes em ambas extrações.

#### 4.6 Análise Estatística

Após a realização dos experimentos, com base na técnica de planejamento utilizada, foi possível perceber como as variáveis de entrada (fatores) influenciaram nas respostas. Os resultados estatísticos foram gerados com intervalos de confiança de 95% para cada variável resposta.

Os resultados da análise de variância (ANOVA) para o rendimento global ( $X_0$ ) mostram que, a nível de 95% de confiança a variável  $Q_{CO_2}$  (p-valor < 0,030) e as interações entre elas foram significativas (p-valor < 0,05) com  $r^2 = 0,979$  para a SFE/ $CO_2$ . Enquanto que, na SFE/ $CO_2$  +  $C_3H_8O$  a influência das variáveis normalizadas (P, T e CI) e suas respectivas interações foram estatisticamente significantes a nível de 95% de confiança (p-valor < 0,05), com  $r^2 = 0,995$ .

A análise de variância (ANOVA), para a atividade antioxidante pelo método DPPH na SFE/ $CO_2$ , indicou contribuição significativa das variáveis de entrada (P, T,  $Q_{CO_2}$ ) e suas respectivas interações sobre o DPPH (p-valor < 0,05;  $r^2 = 0,999$ ). Enquanto que, SFE/ $CO_2$  +  $C_3H_8O$  mostra que as variáveis normalizadas (P, T) foram estatisticamente significantes a nível de 95% de confiança (p-valor < 0,05;  $r^2 = 0,994$ ).

Os resultados da análise de variância (ANOVA), para a atividade antioxidante pelo método ABTS apresentou  $r^2 = 0,999$  da variação experimental na SFE/ $CO_2$ . Enquanto que, o modelo da SFE/ $CO_2$  +  $C_3H_8O$  apresentou  $r^2 = 0,995$ . Em ambas extrações as variáveis normalizadas (P, T,  $Q_{CO_2}$  e CI) e suas respectivas interações, não foram estatisticamente significantes a nível de 95% de confiança (p-valor > 0,05).

Os resultados de análise da variância (ANOVA) para o teor de compostos fenólicos na SFE/ $CO_2$  mostra que as variáveis normalizadas (P, T e  $Q_{CO_2}$ ) e suas respectivas interações, não foram estatisticamente significantes a nível de 95% de confiança (p-valor > 0,05;  $r^2 = 0,980$ ). Enquanto que na SFE/ $CO_2$  +  $C_3H_8O$ , a pressão e a concentração do álcool isopropílico foram os fatores significativos sobre os compostos fenólicos (p-valor < 0,05;  $r^2 = 0,995$ ). Considera-se que a elevação da pressão desempenhou papel importante na extração de compostos fenólicos.

## 5 CONCLUSÃO

A utilização do resíduo de pimenta rosa como insumo para a produção de óleos naturais implica em aumento do valor agregado devido à capacidade antioxidante do óleo obtido e sua possível utilização em diferentes segmentos industriais. Além disso, o aproveitamento dessa matéria-prima, aparentemente sem utilização, constitui boa alternativa econômica e ecológica para a produção de óleos naturais uma vez que tal resíduo normalmente é descartado e reintegrado ao solo.

O óleo extraído através da técnica por Soxhlet, mostrou que o solvente de maior polaridade (metanol) gerou maior rendimento global de óleo 28,62%, por outro lado, a seletividade deste, associado ao seu alto grau de toxicidade, são fatores que limitam o uso do mesmo. Para as SFEs, a introdução do cossolvente mostrou-se eficaz no aumento do rendimento, cujo valor foi de 16,97%.

O modelo de Martínez teve sucesso se ajustando aos dados experimentais da cinética de extração, apresentando menor erro médio relativo. A SFE/CO<sub>2</sub> mostrou que o tempo de extração na fase CER é menor que na SFE/CO<sub>2</sub> + C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. O parâmetro  $t_m$  do modelo de Martínez mostrou relação em torno de 26,76 min para a SFE utilizando o CO<sub>2</sub> puro e 37,30 min quando utilizou o cossolvente, tornando indicativo da concentração dos componentes presentes no óleo ao longo da extração,

Na determinação de compostos fenólicos no óleo obtido com solventes orgânicos, notou-se a relação direta entre o aumento da polaridade do solvente extrator com o aumento da concentração desses compostos, sendo que o metanol (1424,85 mgGAE 100 g<sup>-1</sup> de óleo) e o etanol (497,58 mgGAE 100 g<sup>-1</sup> de óleo) geraram os maiores teores de fenólicos para a extração por Soxhlet. Nas SFEs, o uso do cossolvente não inferiu em maiores concentrações de fenólicos totais. Entretanto, a extração utilizando CO<sub>2</sub> puro na condição 15 MPa/20°C/4 mL min<sup>-1</sup> apresentou a maior concentração desses compostos no óleo (143,26 mgGAE 100 g<sup>-1</sup> de óleo), provavelmente ocasionada pela baixa pressão e temperatura.

Em relação à atividade antioxidante do óleo, determinada por DPPH e ABTS, para a extração por Soxhlet, foi possível destacar, mais uma vez, a relação direta entre a polaridade do solvente e a atividade antioxidante, sendo observado que o óleo extraído no solvente de maior polaridade apresentou maior potencial antioxidante. Com relação às SFE, os resultados obtidos com as extrações utilizando o CO<sub>2</sub> puro apresentaram maior atividade antioxidante pelo método DPPH, sendo encontrado na condição 25 MPa/60°C/2 mL min<sup>-1</sup> o menor valor de IC<sub>50</sub> (452,30

$\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Enquanto que as extrações utilizando o  $\text{CO}_2$  com o isopropanol apresentaram maior atividade antioxidante pelo método ABTS, encontrado na condição 25 MPa/60°C/6% o maior valor de ABTS ( $28,82 \mu\text{MTEAC g}^{-1}$  de óleo). De modo geral, os compostos bioativos presentes no óleo podem agir como sequestrantes de radicais livres devido à sua capacidade de atuar como doador de hidrogênio.

Na quantificação de fenólicos no óleo, obtido nas condições de maior rendimento, foram identificados diversos tipos sendo os principais:  $\alpha$ - tocoferol, ácido p-cumarico, ácido gálico e quercentina. O teor de ácidos encontrado nesse óleo, constitui boa fonte alimentícia o que possibilita sua aplicação na indústria de alimentos.

Diante das técnicas de extrações utilizadas nesse trabalho, fica evidente que a extração por Soxhlet utilizando o metanol como solvente obteve melhores resultados, porém é um solvente tóxico e que precisa de estudo mais detalhado para aplicação do óleo em processos industriais. Por outro lado, a extração com fluido supercrítico é uma técnica mais limpa e com custo elevado, elimina com facilidade o solvente do óleo por utilizar o dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), podendo ser empregado na indústria alimentícia, farmacêutica entre outras. Já que de acordo com o perfil químico dos óleos, tem-se a presença de compostos com importantes atividades biológicas, tais como anti-inflamatória e antimicrobiana.

## REFERÊNCIAS

ABNT. **ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. NBR 10004, 2004-Resíduos Sólidos-Classificação.

ANDRADE, J. K. S. *et al.* Kinetic study of the drying, extraction, and characterization thermal stability of oil seeds of passion of the kill (*Passiflora cincinnata* Mast.). **Revista Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 3, n. 5, p.283-291, 2014.

ANDRADE, K. S. **Extração e Microencapsulamento de Extratos de Interesse Biológico Provenientes de Pimenta-do-Reino (*Piper nigrum* L.) e de Pimenta Rosa (*Schinus terebinthifolius* R.)**/ Kátia Suzana Andrade; orientadora, Sandra Regina Salvador Ferreira – Florianópolis, SC, 2015.

ANDRADE, K.S., GONALVEZ, R.T., MARASCHIN, M., RIBEIRO-DO-VALLE, R.M., MARTÍNEZ, J., FERREIRA, S.R.S., 2012. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544e552. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.031>.

ANDRADE, Kátia S.; PONCELET, Denis; FERREIRA, Sandra R.s.. Sustainable extraction and encapsulation of pink pepper oil. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 204, p.38-45, jul. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.02.020>.

ARAUCO, Mayra Livia. **Obtenção e separação de compostos bioativos de SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI em meio supercrítico e avaliação da atividade citotóxica em células leucêmicas**. 2013. 131 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

BAGHERI, H., MANAP, M. Y. B. A., SOLATI, Z. Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essential oil extracted by supercritical CO<sub>2</sub> extraction and hydrodistillation. **Talanta**, v. 121, p. 220–228, 2014.

BARRALES, F. M. *et al.* Extração de Compostos Bioativos de Sementes de Maracujá-Azedo (*passiflora edulis*) utilizando Líquidos Pressurizados. **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, [s.l.], p.1-7, fev. 2015. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-0395-25697-141236>.

BARWICK, V. J. Strategies for solvent selection – a literature review. **Trends in Analytical Chemistry**, v.16, p.293-309, 1997.

BENDAOUD, H., ROMDHANE, M., SOUCHARD, J.P., CAZAUX, S., BOUAJILA, J., 2010. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus Molle* L. and *Schinus Terebinthifolius raddi* berries essential oils. **Journal of Food Science**. 75, 466e472. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01711.x>.

BENELLI, P.; RIEHL, C.A.S.; SMÂNIA, A. J.; SMÂNIA, E. F. A.; FERREIRA, S. R. S. Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition. *The Journal of Supercritical Fluids*, 2014.

BERTOLDI, M., 2006. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. Univ. Fed. Viçosa, Viçosa 96, 96f.

BOROSKI, M. *et al.* Compostos fenólicos e flavonoides. In: BOROSKI, Marcela *et al.* **Antioxidantes Princípios e Métodos Analíticos**. Curitiba: Appris, 2015. Cap. 3. p. 49-55.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resíduos sólidos**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/residuos-solidos>>. Acesso em: 25 set. 2017.

BRUNNER, G. **Gas extraction**: in introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation process. Darmstadt:Steinkopff, 1994.

BUCIC-KOJIC, A.; PLANINIC, M.; TOMAS, S.; BILIC, M.; VELIC, D. Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds, **Journal of Food Engineering**. 81 (2007) 236–242.

CALLISTER, W.D., RETHWISCH, D.G. Difusão. In: **Ciência e engenharias de materiais uma introdução**. Rio de Janeiro: LTC, 2013. Cap.5. p. 105-121.

CAMPOS, L. M. A. S.; LEIMANN, F. , V.; PEDROSA, R. C.; FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8413-20, 2008.

CAMPOS, L. M. A. S.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; FERREIRA, S. R. S. Experimental data and modeling the supercritical fluid extraction of marigold (*Calendula officinalis*) oleoresin. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, p. 163-170, 2005.

CARDOZO, K.H.M. et al. Metabolites from algae with economical impact. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.146, p.60-78, 2007.

CASTRO, M.D.L; CAPOTE, F.P. **Soxhlet Extraction Versus Accelerated Solvent Extraction**. cap. 2, University of Córdoba, Córdoba -Spain. p. 83-103, 2016.

CAVALCANTI, R. N. **Extração de antocianinas de resíduo de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) utilizando líquido pressurizado e fluido supercrítico**: caracterização química, avaliação econômica e modelagem matemática. 2013. 235f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, Brasil, 2013.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2ª Ed. São Paulo: Unicamp, 2003. p. 69 – 70.

CORSO, M. P.; FAGUNDES-KLEIN, M. R.; SILVA, E. A.; CARDOZO-FILHO, L.; SANTOS, J. N.; FREITAS, L. S.; DARIVA, C. Extraction of sesame seed (*Sesamun indicum* L.) oil using compressed propane and supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, 52, 56-61, 2010.

DAGOSTIN, J.L.A. **Estudo da Extração Etanólica de Óleo de Soja Utilizando Ésteres Como Co-Solventes**. 2015. 139f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba- PR, Brasil, 2015.

DAMBROS, J. I. **Estabilidade de compostos potencialmente bioativos e alterações de qualidade em frutos e produtos de pimenta (*Capsicum spp.*)** 2014. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

DOURADO, M. T. **Óleos essenciais e oleoresina da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*): propriedades químicas e biológicas**. 2012. 120f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

DOURADO, M. T. **Óleos essenciais e oleoresina da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*): propriedades químicas e biológicas**. 2012. 121 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

EMATER - Agência Goiana de Assistência Técnica, Extensão Rural e Pesquisa Agropecuária. **Perspectivas e potencialidades do mercado para pimentas**. Disponível em: <[www.emater.go.gov.br](http://www.emater.go.gov.br)>. Acesso em: 28 ago. 2017.

FELISBERTO, Mária Herminia Ferrari et al. Young bamboo culm: Potential food as source of fiber and starch. **Food Research International**, [s.l.], p.1-8, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.058>.

FENNEMA, O. R. **Química de alimentos**. 4ªed. – Editora Artmed, 2010.

FERREIRA, Bruno Luís et al. Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó. **Brazilian Journal Of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 3, p.236-242, set. 2014.

FOUST, A. S., WENZEL, L. A., CLUMP, C. W., MAUS, L., ANDERSEN, L. B. **Princípios das operações unitárias**. 2ªedição, Cap. 1, Rio de Janeiro – LTC, 2012.

FREITAS, Lisiane dos Santos. **Desenvolvimento de procedimentos de extração do óleo de semente de uva e caracterização química dos compostos extraídos**. 2007. 227 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

GARCIA, V.A.S., CABRAL,V.F., ZANOELO,E.F., DA SILVA,C., FILHO, L.C. Extraction of *Mucuna* seed oil using supercritical carbon dioxide to increase the concentration of L-Dopa in the defatted meal. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.69, p. 75-81, 2012.

GOMES, J. J. **Extração com solvente com uso de ultrassom: Potencialidade antioxidante dos extratos das sementes de Mangaba (*Hancornia speciosa*) e Graviola (*Annona muricata*)**. 2016. 50 f. TCC (Graduado em Química Industrial)- Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão SE, Brasil, 2016.

GOMES, S.V.F., PORTUGAL, L.A., DOS ANJOS, J. P., DE JESUS, O. N., DE OLIVEIRA, E. J., DAVID, J.P., DAVID, J. M. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in *Passiflora* species, **Microchemical Journal**, v.132, p. 28-35, 2017, 10.1016/j.microc.2016.12.021.

GOMEZ-RUIZ, J.A.; LEAKE, D.S.; AMES, J M. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n.17, p. 6962-6969, 2007.

GOMIDE, R. **Operações Unitárias: Operações com sistemas sólidos granulares**, v. 1, Edição do autor, 1983.

GOULA, A. M. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil – Kinetic modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 492 – 498, 2013.

GROSSO, C. et al. Mathematical modelling of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of volatile oils from aromatic plants. **Chemical Engineering Science**, [s.l.], v. 65, n. 11, p.3579-3590, jun. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ces.2010.02.046>.

HERMAN, A. S. **Biomedical Applications of Gas Chromatography**. New York: Plenum Press, 1964.

HU, Q.; HU, Y.; XU, J. Free radical-scavenging activity of Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller) extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**. v. 91, p. 85-90, 2005.

IAC, disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/noticiasdetalhes.php?id=1071>>, consultado INSTITUTO ADOLFO LUTZ, IAL **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**.

KOBORI, C. N. and Jorge, N. Caracterização dos Óleos de Algumas Sementes de Frutas como Aproveitamento de Resíduos Industriais. **Ciência e agrotecnologia**, 29 (5), pp. 1008-1014, 2005.

KRAUJALIS, P., KRAUJALIENÉ, V., KAZERNAVICIUTE, R., VENSKUTONIS, P.R. Supercritical Carbon Dioxide And Pressurized Liquid Extraction Of Valuable Ingredients From Viburnum Opulus Pomace And Berries And Evaluation Of Product Characteristics. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 122, p.99-108, 2016.

LAGO, S., RODRÍGUES, H., ARCE, A., SOTO, A. Improved concentration of citrus essential oil by solvent extraction with acetate ionic liquids. **Journal Fluid Phase Equilibria**, p. 33 – 44, 2014.

LANNES, S. D.; FINGER, F. L.; SCHUELTER, A. R.; CASALI, V. W. D.; Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 112, p. 266-270, 2007.

LAUFENBERG, G. Transformation of vegetable waste into added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. **Bioresource Technology**, 87, pp.167-198, 2003.

LI, D., LIU, Z., ZHAO, W., XI, Y., NIU, F. A straightforward method to determine the cytotoxic and cytopathic effects of the functional groups of gallic acid, **Process Biochemistry**, v.46, p.2210-2214, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.08.011>

MATOS, A. T. de. **Tratamento de resíduos agroindustriais**. Universidade Federal de Viçosa. 2005.

MATSUO, *et al.*  $\alpha$ -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411, p. 449–454, 2011.

MAZZUTTI, Simone *et al.* Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. **The Journal Of Supercritical Fluids**, [s.l.], v. 119, p.211-220, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2016.09.018>.

MAZZUTTI *et al.* Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: Antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 48–56, 2012.

MEDINA, S., COLLADO-GONZÁLEZ, J., FERRERES, F., LONDOÑO-LONDOÑO, J., JIMÉNEZ-CARTAGENA, C., GUY, A., DURAND, T., GALANO, J.M., GIL-IZQUIERDO, A. Quantification of phytoprostanes -bioactive oxylipins- and phenolic compounds of *Passiflora edulis* Sims shell using UHPLC-QqQ-MS/MS and LC-IT-DADMS/MS. **Food Chemistry**, v.229, p.1-8, 2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.049>

MEHTA, Deepak *et al.* Effect of drying techniques and treatment with blanching on the physicochemical analysis of bitter-gourd and capsicum. **Lwt - Food Science And Technology**, [s.l.], v. 84, p.479-488, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.005>.

MESOMO, M. C.; SCHEER, A. DE P.; PEREZ, E.; NDIAYE, P. M.; CORAZZA, M. L. Ginger (*Zingiber officinale* R.) extracts obtained using supercritical CO<sub>2</sub> and compressed propane: Kinetics and antioxidant activity evaluation. **Journal of Supercritical Fluids**, 71, 102-109, 2012. Universidade Federal do Paraná, 2013.

MICHIELIN, E. M. Z. **Obtenção de extrato de erva baleeira (*Cordia verbenacea* D.C.) por diferentes técnicas**: medida da atividade biológica, modelagem matemática e determinação do equilíbrio de fases. Florianópolis: UFSC, 2009. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

MOIA, T.A. **Extração e caracterização do óleo e da pectina da casca de banana utilizando tecnologia verde**. 2014. 51f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Maringá, Maringá-PR, Brasil, 2014.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C.; HUBELE, N. F. **Estatística aplicada à engenharia**. 2 ed, LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., Rio de Janeiro-RJ, 2004.

MUKHOPADHYAY M. **Natural extracts using supercritical carbon dioxide**. - Washington : CRC Press, 2000.

NOGUEIRA, R. I. *et al.* **Effects of drying parameters on pepper (*Capsicum spp*) quality.** 4th Mercosur Congress on Process Systems Engineering (Enpromer). Costa Verde - RJ. 2005.

NOVACOSK, R e TORRES R.S.L.A. Atividade antimicrobiana sinérgica entre óleos essenciais de lavanda (*Lavandula officinalis*), Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), Cedro (*Juniperus virginiana*), Tomilho (*Thymus vulgaris*) e Cravo (*Eugenia caryophyllata*). *Revista Analytica*. Fevereiro/Março n° 21, 2006.

OLIVEIRA, C. F. de, GIORDANI, D., LUTCKEMIER, R., GURAK, P.D., OLIVERA, F. C., MARCZAK, L.D.F. Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71 p.110-115, 2016.

OLIVEIRA, D.da S. **Nova Metodologia Para Extração de Compostos Fenólicos de Vinho Tinto e Avaliação da Estabilidade dos Extratos Obtidos.** 2014, 138 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia do Alimento), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, Brasil, 2014.

OLIVEIRA, E.A de e SAWAYA A.C.H.F. **Atividade antioxidante de pitanga I Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica UNIBAN**, Programa de Iniciação Científica-Tecnológico. Grande São Paulo, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA et al. Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*, v. 164, p. 423–432, 2013.

PEREIRA, C.; MEIRELES, M. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, n. 3, p. 340-372, 2010.

PEREZ, E. E.; CARELLI, A. A.; CRAPISTE, G. H. Temperature-dependent diffusion coefficient of oil from different sunflower seeds during extraction with hexane. **Journal of Food Engineering**. 105 (2011) 180–185.

PESSOA, Alcidênio Soares et al. Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcriticalpropane: Determination of process yield and fatty acid profile. **The Journal Of Supercritical Fluids**, Nd, v. 101, n. 8, p.95-103, mar. 2015.

PRONYK, C.; MAZZA, G. Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts. **Journal of Food Engineering**, 95, 215-226, 2009.

REDA, S. Y., Leal, E. S., Batista, E. A. C, Barana, A. C., Schnitzel, E., Carneiro, P. I. B., 2005. Caracterização dos Óleos das Sementes de Limão Rosa (*Citrus Limonia* Osbeck) e Limão Siciliano (*Citrus limon*), um Resíduo Agroindustrial. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, 25 (4), pp.672- 676.

RODRIGUES, L. M. **Obtenção de Extratos com Bixina a Partir de Sementes de Urucum Desengorduradas: Estudo dos Parâmetros de Processo.** 2013. 124f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, Brasil, 2013.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**, 3 ed. Campinas: Cárita - SP, 2014.

ROVEDA, L.M.; FORMAGIO, A.S.N.; BALDIVIA, D.S.; SANTOS, L.A.C. VIEIRA, M.C.; CARDOSO, C.A.L.; FOGLIO, M.A.; CARVALHO, J.E.; NETO F.F. 10 Simposio Brasil-Japão 2010. Sustentabilidade: Um desafio da Humanidade. Campo Grande, MS. Outubro de 2010.

RUFINO, M.S.M, ALVES, R.E, BRITO, E.S, MORAIS, S.M, SAMPAIO, C.G, JIMENEZ, J.P., CALIXTO, F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Embrapa**, v. 127: p. 1-4, 2007.

SANTIAGO, J.de A. **Óleos Essenciais de Três Espécies de Myrtaceae: Composição Química, Atividades Antioxidante, Hemolítica, Antitumoral, Anticancerígena e Citogenotóxica**. 2015. 222f. Tese (Doutorado em Agroquímica), Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG , Brasil, 2015.

SANTOS, M.M . **Sustentabilidade e sustentação da produção de alimentos no Brasil**. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2014. 208 p. (Agroindústria de Alimentos, 4).

SANTOS, P. Extração de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens L.*) a baixa pressão assistida por ultrassom. **Anais do Xx Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, [s.l.], p.1-8, fev. 2015. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-1537-18776-145976>.

SARAVANAN, S., ARUNACHALAM, K., PARIMELAZHAGAN, T. Bioprospecting Laboratory in Antioxidant, analgesic, anti-inflammatory and antipyretic effects of polyphenols from *Passiflora subpeltata* leaves – A promising species of *Passiflora*. **Industrial Crops & Products**, v.46. p. 272-280, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.038>

SHAGHAGHI, M., MANZOORI, J.L., JOUYBAN, A. Determination of total phenols in tea infusions, tomato and apple juice by terbium sensitized fluorescence method as an alternative approach to the folin–ciocalteu spectrophotometric method. **Food Chemistry**, v.108, n.2, p. 695-701, 2008.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidante activity and health effects; a review. **Jornal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 18, p. 820-897, 2015.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidante activity. **Jornal of Functional Fods**, Amsterdam, v. 18, p. 757-781, 2015.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations - A review of current status. **Chemical Engineering and Processing**, v. 53, p.10– 23, 2012.

SILVA, C.; SILVA, S. B. Avaliação de solventes e condições experimentais para extração do óleo de sementes de nabo forrageiro (*Raphanus sativus L.*). **Engevista**, v.18, n.2, p. 348-362, 2016.

SILVA, C. da; GARCIA, V. A. dos S.; FRANCISCATO, L. M. S. dos S. Extração Assistida por Ultrassom de Compostos Bioativos das Cascas de Lichia (*Litchi Chinensis* Sonn.). **Revista Ciências Exatas e Naturais**, Maringá, v. 181, n. 1, p.81-96, 07 jan. 2016

SILVA, P. D., **Determinação de compostos fenólicos por HPLC**. 2012. 137f. Dissertação (Mestrado em Química Industrial), Universidade da Beira Interior, Covilhã - ,Brasil,2012.

SILVA, S. M.; MAIA, L. F. O.; DAMASCENO, S. M. Estudo da extração de óleo do caroço de algodão por solvente alternativo. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 2014, Florianópolis. **Anais...** Montes Claros, 2014, p.1 -8.

SOARES, I. M.; BASTOS, E. G. P.; SOBRINHO, T. J. S. P.; ALVIM, T. C.; SILVEIRA, M. A.; AGUIAR, R. W. S.; ASCÊNCIO, S. D. Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de diferentes cultivares de ipomoea batatas (L.) lam. obtidas por melhoramento genético para produção industrial de etanol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas**. v.35, n3, p.479 -488, 2014.

SORIA, A.C.; VILLAMEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p. 323-331, 2010.

SOUZA, E.L.; LIMA, E.O.; FREIRE, K.R.L.; SOUSA, C.P. Inibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of moulds isolated from foods. **Braz Arch Biol Technol** 48: 245-250, 2005.

SOUZA, D.S. **Caracterização e Avaliação da Capacidade Antioxidante da Polpa Liofilizada Enriquecida Com o Extrato Aquoso da Semente de Tamarindo (*Tamarindus Indica*)**. 2015. 180 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, Brasil, 2015.

SOVOVÁ, H. Modeling the supercritical fluid extraction of essential oils from plant materials. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 27-33, 2012.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO<sub>2</sub>-I: modeling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, p. 409-414, 1994.

SUBRAMANIAN, R., SUBBRAMANIYAN, P., NOORUL AMEEN, P., RAJ, V. Double bypasses soxhlet apparatus for extraction of piperine from *Piper nigrum*. **Arabian Journal of Chemistry**, v.9, p. 537-540, 2016.

TAN, C.; LIOU, D. Modeling of Desorption at Supercritical Conditions. **American Institute of Chemical Engineers (AIChE) Journal**, v. 35, p. 1029-1031, 1989.

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

ZENEBON O.; PASCUET N. S.; TIGLEA P. Método 012/IV. 1 ed. digital, p 98-99, Método 016/IV. 1 ed. digital, p 103-104, Método 018/IV. 1 ed. digital, p 105-106, Método 032/IV. 1 ed. digital, p137-138, Método 315/IV. 1 ed. digital, p 579-582, 2008.

ZERAIK, M.L.; YARIWAKE, J.H. Extraction of  $\beta$ -carotene from carrots: a proposal for experimental courses in chemistry. **Química Nova**, v.31, n. 5, p. 1259-1262, 2008.