

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

**EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DOS EXTRATOS OBTIDOS DA SEMENTE DO TAMARINDO
DOCE (*Tamarindus indica*)**

Páulia Maria Cardoso Lima Reis
Engenheira de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Haiko Hense

Co-orientadores: Prof.^a Dr.^a Gizelle Ângela B. Vieira
Prof. Dr. Cláudio Dariva

Florianópolis/SC

2013

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

Páulia Maria Cardoso Lima Reis

**EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DOS EXTRATOS OBTIDOS DA SEMENTE DO TAMARINDO
DOCE (*Tamarindus indica*)**

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração:
Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Haiko Hense

Coorientadores: Prof.^a Dr.^a Gizelle Ângela Barroso Vieira. Prof. Dr. Cláudio Dariva.

Florianópolis/SC

2013

**EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DOS EXTRATOS OBTIDOS DA SEMENTE DO TAMARINDO
DOCE (*Tamarindus indica*)**

Por

Páulia Maria Cardoso Lima Reis

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

Prof. Dr. Haiko Hense
Orientador

Prof. Dr. João Borges Laurindo
Coordenador

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Sandra Regina S. Ferreira

Prof. Dr. Marcelo Lanza

Prof.^a Dr.^a Cíntia Soares

Prof. Dr. Haiko Hense

Florianópolis, 19 de fevereiro de 2013.

*Ao meu amor, Jeferson Reis, e aos
meus filhos, Júlia Reis e Vinícius Reis.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter iluminado todos os lugares por onde passei.

Ao meu orientador, Dr. Haiko Hense, pela atenção, apoio e dedicação na orientação deste trabalho, mesmo “tão tão” distante!!

Aos Professores Dr. Cláudio Dariva e Dr. Elton Franceschi, como também, toda equipe do NUESC pela estrutura, disposição e orientação na execução deste trabalho.

A Professora Dr.^a Gizelle Ângela B. Vieira pela contribuição na co-orientação deste trabalho.

Ao Professor Dr. Marcelo Lanza pela ideia brilhante da parceria com a UNIT para execução de uma parte deste trabalho.

A toda equipe do LATESC por terem me acolhido com muito carinho, em especial a Patrícia Benelli e Raquel Loss por compartilharem seus conhecimentos técnicos e pela atenção prestada durante o período que passei na USFC e sempre que solicitei.

Aos Professores e Professoras do Programa de Pós-Graduação de Engenharia de Alimentos, por saírem do conforto dos seus lares, deixando suas famílias para virem a Petrolina e tornar este Convênio entre o IF Sertão-PE e a UFSC, tão esperado, uma realidade para nossa Região.

Ao Prof. Dr. Flávio Luiz H. da Silva pelo auxílio na avaliação estatística deste trabalho.

As Professoras Dr.^a Luciana C. de Azevêdo e Dr.^a Alcilene R. M. Fritz e à secretária Raquel C. Agostineto pela coordenação e execução das ações que tornaram este Convênio real e viável.

A minha amiga e colega de trabalho, Roberta Verônica dos S. C. Mesquita, pela matéria-prima necessária para a realização dos experimentos.

Aos membros da banca examinadora, Dr.^a Cíntia Soares e Dr.^a Sandra Regina S. Ferreira e Dr. Marcelo Lanza, pela participação e contribuição técnica.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco e a CAPES pelo apoio financeiro para a execução deste Convênio.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

Minha sincera gratidão.

“Quando a gente acha que tem todas as respostas, vem a vida e muda todas as perguntas”.

(Luís Fernando Veríssimo)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antioxidante dos extratos da semente do tamarindo doce (*Tamarindus indica*) obtidos com CO₂ supercrítico, subcrítico e com diferentes concentrações de etanol (10 %, 25 %, 50 %, 75 % e 100 %). As extrações com CO₂ puro foram realizadas no intervalo de 20 a 50 °C e 100 a 250 bar e com etanol nas condições de 50 °C e 250 bar, como também a 40 °C e pressão ambiente. Os rendimentos das extrações com CO₂ puro de melhor quantidade e qualidade antioxidante foram obtidos nas condições de 50 °C e 250 bar. Não houve diferença significativa, ao nível de 5 % pelo teste de Tukey, entre os rendimentos dos extratos obtidos com 75 % e 100 % de etanol, para ambas as condições citadas. No entanto, o teor de compostos fenólicos do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % de etanol a 50 °C e 250 bar foi superior a todos os outros, inclusive, ao antioxidante sintético hidroxitolueno de butila. Portanto, os extratos etanólicos da semente do tamarindo doce, obtidos pela tecnologia supercrítica com mistura de solventes, são potenciais fontes de antioxidantes naturais para a indústria de alimentos.

Palavras-chave: Antioxidante. Extração. Semente. Supercrítica. Tamarindo.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of the extracts of the seed of sweet tamarind (*Tamarindus indica*) obtained with supercritical CO₂ and subcritical with different concentrations of ethanol (10 %, 25 %, 50 %, 75 % and 100 %). The extractions were performed with pure CO₂ in the range 20 - 50 °C and 100 - 250 bar and ethanol under the conditions of 50 °C and 250 bar and 40 °C and ambient pressure. The yields of pure CO₂ extractions with better quality and quantity of antioxidant was obtained under the conditions of 50 °C and 250 bar. There was no significant difference at the 5 % level by the Tukey test, between the yields of extracts obtained with 75 % and 100 % ethanol, for both conditions cited. However, the phenolic content of the extract of tamarind seed obtained with fresh 100 % ethanol at 50 °C and 250 bar was superior to all others, including the synthetic antioxidant butyl hydroxytoluene. Therefore, the ethanol extracts of the seed of the tamarind sweet, obtained by supercritical technology with solvent mixture, are potential sources of natural antioxidants for the food industry.

Keywords: Antioxidants. Extraction. Seed. Supercritical. Tamarind.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Semente do tamarindo doce	33
Figura 2 - Mecanismo de reação da oxidação lipídica	36
Figura 3 - Antioxidantes sintéticos	36
Figura 4 - Curva de extração	41
Figura 5 - a) Fruto do tamarindeiro; b) Polpa do tamarindo doce	43
Figura 6 - Moinho de facas	44
Figura 7 - Extrator supercrítico	45
Figura 8 - Picnômetro de gás He	48
Figura 9 - Pó da semente do tamarindo doce seca	57
Figura 10 - Rendimento das extrações das amostras úmida e seca	58
Figura 11 - Curva cinética de extração da semente do tamarindo doce a 250 bar e 50 °C	60
Figura 12 - Extratos da semente do tamarindo doce	62
Figura 13 - Gráfico de Pareto	63
Figura 14 - Superfície de Resposta da influência da temperatura e pressão no rendimento global da extração subcrítica e supercrítica da semente do tamarindo doce	64
Figura 15 - Rendimento global da extração com CO ₂ puro	64
Figura 16 - Comportamento de X _o em condição isotérmica (20 °C)	66
Figura 17 - Extrato obtido com CO ₂ + 75 % etanol	67
Figura 18 - Rendimento dos extratos obtidos em diversas concentrações de etanol, a 250 bar e 50 °C	68
Figura 19 - Curva ESC da semente do tamarindo doce modelada a 250 bar/50 °C, com vazão de 3,85 ±0,5 g/min	70
Figura 20 - Concentração de extrato <i>versus</i> AA % para 250 bar e 50 °C	76
Figura 21 - Curva padrão de ácido gálico utilizada para determinação do teor de fenólicos totais (TFT), 765 nm	113
Figura 22 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 100 bar e 20 °C	115
Figura 23 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 175 bar e 35 °C	116
Figura 24 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 175 bar e 35 °C	117
Figura 25 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 250 bar e 20 °C	118

Figura 26 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 250 bar e 50 °C.....	119
Figura 27 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 10 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	120
Figura 28 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 25 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	121
Figura 29 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 50 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	122
Figura 30 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 75 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	123
Figura 31 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	124
Figura 32 – CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, método Soxhlet.....	125

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Medidas físico-químicas do fruto de tamarindo “doce” (n=3).....	32
Tabela 2 - Classificação dos antioxidantes.....	35
Tabela 3 - Variáveis e níveis do delineamento experimental.....	51
Tabela 4 - Matriz de planejamento fatorial $2^2 + 3$ pontos centrais.....	51
Tabela 5 - Matriz de planejamento da extração com CO ₂ + álcool etílico.....	52
Tabela 6 - Teor de umidade e substâncias voláteis.....	57
Tabela 7 - Caracterização do leito de partículas.....	59
Tabela 8 - Parâmetros cinéticos de extração de tamarindo doce, a 250 bar e 50 °C.....	61
Tabela 9 - Rendimento global das extrações.....	62
Tabela 10 - ANOVA para avaliação dos efeitos da temperatura (T) e pressão (P) sobre o rendimento da ESC da semente de tamarindo doce.....	63
Tabela 11 - Resultado da extração com CO ₂ + etanol na condição de 250 bar e 50 °C.....	67
Tabela 12 - Comparação dos rendimentos das extrações com CO ₂ combinado com etanol e extração direta em Soxhlet.....	69
Tabela 13 - Variáveis e parâmetros dos modelos matemáticos.....	71
Tabela 14 - Teor de compostos fenólicos total (TFT), expressos em equivalentes de ácido gálico para os extratos da semente de tamarindo doce.....	73
Tabela 15 - Atividade antioxidante e EC ₅₀ pelo método DPPH.....	75
Tabela 16 - Compostos químicos identificados na semente de tamarindo doce por cromatografia gasosa por espectrometria e massa (CG-EM).....	79
Tabela 17 - Dados experimentais dos extratos dos testes preliminares.....	110
Tabela 18 - Dados da curva cinética de extração.....	111
Tabela 19 - Dados das curvas de extração com CO ₂ puro.....	112
Tabela 20 - Dados das curvas de extração com CO ₂ + etanol.....	113
Tabela 21 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 100 bar e 20 °C.....	115

Tabela 22 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 175 bar e 35 °C.....	116
Tabela 23 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 175 bar e 35 °C.....	117
Tabela 24 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 250 bar e 20 °C.....	118
Tabela 25 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 250 bar e 50 °C.....	119
Tabela 26 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 10 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	121
Tabela 27 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 25 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	122
Tabela 28 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 50 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	123
Tabela 29 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO ₂ + 75 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	124
Tabela 30 – Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, a 250 bar e 50 °C.....	125
Tabela 31 – Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, método Soxhlet.....	125

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Teor de umidade e voláteis.....	44
Equações 2 - Rendimento (%).....	42
Equações 3 e 4 – Diâmetro médio de partículas.....	47
Equação 5 - Massa específica aparente.....	47
Equação 6 - Porosidade do leito.....	48
Equação 7 - Lipídeos ou extrato etéreo por cento.....	50
Equação 8 - Y _{cer}	53
Equação 9 - TFT.....	54
Equação 10 - AA (%).....	55

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA%	Atividade antioxidante
Abs	Absorbância
ANOVA	Análise de variância
b	Parâmetro ajustável – Modelo de Esquível et al. (1999)
b	Parâmetro ajustável (min^{-1}) - Modelo de Martínez et al. (2003)
BHA	Hidroxianisol de butila
BHT	Hidroxitolueno de butila
CER	Etapa de taxa constante de extração
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
cm	Centímetros
°C	Graus Celsius
CO ₂	Dióxido de carbono ou gás carbônico
D	Coefficiente de difusão (m^2/min) ou Diluição
DCP	Etapa difusional ou Etapa de taxa nula de extração
di	Diâmetro da peneira i (mm)
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazil
ds	Diâmetro médio superficial das partículas (mm)
ε	Porosidade do leito
EAG	Equivalente em ácido gálico
EC ₅₀	Concentração efetiva (mg/mL)
ESC	Extração supercrítica
EXT	Extração
F	Valor F
FER	Etapa de taxa decrescente de extração
g	Gramas de lipídeos
HDL	Lipoproteína de alta densidade
K _{xa}	Coefficiente de transferência de massa para a fase sólida (s^{-1})
K _{ya}	Coefficiente de transferência de massa para a fase fluida (s^{-1})
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
M	Massa total de amostra ou taxa de extração
M _{cer}	Taxa de extração na etapa CER (g/min)
mf	Massa final de amostra (g)
mg	Miligramas
mi	Massa inicial da amostra (g) ou massa de amostra retida na peneira i (g)
min.	Minutos
mL	Mililitros

m	Milímetros
MSE	Erro médio quadrático
N	Gramas de lipídeos
n	Número total de frações
N	Número total de frações ou massa de inerte - Modelo de Esquivel et al. (1999) ou Modelo de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008)
o	Orto
ρ_a	Massa específica aparente
ρ_r	Massa específica real
P	Pressão ou gramas da amostra
P	Probabilidade ou nível de significância
ρ_{CO_2}	Massa específica do solvente supercrítico (g/cm^3)
PG	Galato de propila
Q_{CO_2}	Vazão do solvente (kg/s)
r	Raio da partícula
SFE	Extração com fluido supercrítico
SQ	Soma dos quadrados
SVS/MS	Serviço Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde
T	Temperatura
TBHQ	terc-butil hidroquinona
t_{cer}	Tempo da etapa de taxa constante de extração
t_{fer}	Tempo da etapa de taxa decrescente de extração
TFT	Teor de fenólicos total
tm	Parâmetro ajustável (min^{-1}) - Modelo de Martínez et al. (2003)
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UNIT	Universidade Tiradentes
Xk	Razão mássica de soluto de difícil acesso
Xo	Rendimento da extração (%)
Y	Concentração de soluto na fase solvente
Y_{cer}	Concentração de soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER (kg/kg)
y_t	Concentração de soluto na fase solvente (kg/kg)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
1.1	OBJETIVOS	28
1.1.1	Objetivo Geral	28
1.1.2	Objetivos Específicos	28
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1	TAMARINDO DOCE (<i>Tamarindus indica</i>)	31
2.2	ANTIOXIDANTES	34
2.3	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	37
2.3.1	Extração com solventes	37
2.3.2	Extração supercrítica	38
2.3.3	Curvas de extração	40
2.4	MODELAGEM MATEMÁTICA	42
3	MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1	AQUISIÇÃO E PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	43
3.1.1	Determinação do teor de umidade e substâncias voláteis da matéria-prima in natura e seca	44
3.2	TESTES PRELIMINARES	44
3.2.1	Extração supercrítica preliminar	45
3.2.1.1	Equipamento de extração supercrítica	45
3.2.1.2	Avaliação da influência da umidade nos rendimentos das extrações ESC	45
3.2.2	Caracterização do leito de partículas	46
3.2.2.1	Determinação do diâmetro médio de partículas (ds)	46
3.2.2.2	Determinação da massa específica aparente (ρ_a)	47
3.2.2.3	Determinação da massa específica real (ρ_r)	47
3.2.2.4	Porosidade do leito (ϵ)	47
3.3	EXPERIMENTO CINÉTICO - CURVA DE EXTRAÇÃO PRELIMINAR E PARÂMETROS CINÉTICOS	48
3.3.1	Determinação da solubilidade preliminar	49
3.4	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE LIPÍDEOS (EXTRATOS)	49
3.4.1	Determinação da massa específica do solvente supercrítico (ρ_{CO_2})	50
3.4.2	Extração direta em Soxhlet (convencional)	50
3.4.3	Delineamento experimental e rendimento das extrações com CO₂ puro e CO₂ + diferentes concentrações de etanol	51
3.4.4	Curvas de extração	52

3.5	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS OBTIDOS PELOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO COM SOLVENTES (MÉTODO DE SOXHLET) E PELA EXTRAÇÃO SUPERCÍTRICA	53
3.5.1	Determinação da atividade antioxidante	53
3.5.1.1	Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Total (TFT)	53
3.5.1.2	Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH	54
3.5.2	Análise cromatográfica acoplada com espectrometria de massa	55
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1	TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS DA MATÉRIA PRIMA <i>IN NATURA</i> E SECA	57
4.2	TESTES PRELIMINARES	58
4.2.1	Extração supercrítica preliminar	58
4.2.2	Caracterização do leito de partículas	58
4.3	CURVA CINÉTICA E PARÂMETROS CINÉTICOS DE EXTRAÇÃO	60
4.4	RENDIMENTO DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO (X_o)	61
4.4.1	Influência da temperatura no rendimento global	65
4.4.2	Influência da pressão no rendimento global	66
4.4.3	Emprego do solvente etanol no processo de extração	66
4.4.4	Modelagem matemática	70
4.5	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	72
4.5.1	Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Total (TFT) ..	72
4.5.2	Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH ..	75
4.5.3	Perfil de ácidos graxos encontrados nos extratos da semente de tamarindo doce	77
5.	CONCLUSÃO	85
6.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	89
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
	APÊNDICES	103
	APÊNDICE A: MODELOS MATEMÁTICOS	104
	APÊNDICE B: DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO	110
	APÊNDICE C: CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO	114
	APÊNDICE D: CROMATOGRAMAS E COMPOSTOS IDENTIFICADOS DOS EXTRATOS DA SEMENTE DE TAMARINDO DOCE ..	115

1 INTRODUÇÃO

O tamarindo doce, uma variedade do *Tamarindus indica*, é raramente encontrado no Brasil. No entanto, no sertão baiano, na cidade de Sento Sé, a fazenda Bebedouro possui uma área de 2000 hectares com plantação de Tamarindo “doce”, nome atribuído ao fruto por não apresentar a acidez marcante do tamarindo comum.

As sementes do tamarindo, tanto a variedade ácida como a doce, são descartadas sem nenhum aproveitamento tecnológico pelas pequenas indústrias da região do Submédio do São Francisco, que envolve as cidades de Petrolina/PE e Juazeiro/BA, necessitando de estudos que demonstrem seu potencial tecnológico para as indústrias alimentícias ou farmacêuticas.

O aproveitamento de cascas e sementes surge como uma alternativa para reduzir os resíduos industriais, contribuindo para a proteção ao meio ambiente. Além da importância da redução de resíduos orgânicos, as extrações e identificação dos compostos presentes na semente do tamarindo doce são uma inovação na área da pesquisa no Brasil.

As frutas, folhas e sementes são fontes naturais de antioxidantes e diversas pesquisas têm apostado nesta alternativa para a substituição dos antioxidantes sintéticos. Estes têm sido alvo de questionamentos quanto a sua inocuidade, levando a indústria de alimentos a procurar alternativas para a sua substituição. No entanto, até o momento, a quantidade necessária para inibir reações antioxidantes e sensorialmente aceita pelo consumidor ainda não foi determinada (RAMALHO; JORGE, 2006).

A utilização de tecnologias limpas nos processos de extração de compostos pode ser considerada um avanço para o aproveitamento de resíduos industriais e para a preservação do meio ambiente. A extração com fluido subcrítico ou supercrítico tem como uma de suas vantagens a obtenção do extrato livre do solvente, com elevado grau de pureza e, como desvantagem o alto custo devido a utilização de materiais e estrutura resistentes a altas pressões (BRUNNER, 1994).

O CO₂ é o solvente comumente utilizado nos processos de extração subcrítica e supercrítica. No entanto, não é o solvente mais apropriado para extração de compostos antioxidantes. Sua eficiência é

elevada com a utilização de modificadores, como o etanol, o qual possui semelhança química com estes compostos (TSAO; DENG, 2004; DÍAZ-REINOSO et al., 2006).

A modelagem matemática é de fundamental importância para prever o comportamento do processo de extração em escala industrial, fornecendo dados necessários para a construção de equipamentos e projeção de plantas industriais, contribuindo na avaliação da viabilidade econômica deste processo.

A identificação dos compostos presentes no extrato da semente do tamarindo doce serve de embasamento para futuros investimentos nesta matéria-prima tão comum e adaptada ao Sertão Nordestino, agregando valor a mais um resíduo descartado pelas indústrias de polpa de frutas do Vale do São Francisco.

No Brasil, a extração e caracterização dos compostos presentes na semente do Tamarindo doce são inéditos, sendo necessários estudos mais aprofundados da variedade doce e da viabilidade econômica deste resíduo.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Obtenção do extrato da semente do *Tamarindus indica*, variedade doce do sertão baiano, em diferentes condições de temperatura e pressão e avaliação da sua atividade antioxidante.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Influência da umidade da matéria-prima nos rendimentos da extração da semente do tamarindo doce;
- b) Caracterização do leito de partículas da semente do tamarindo doce utilizada como matéria-prima;
- c) Avaliação da melhor condição de temperatura e pressão para o rendimento dos extratos obtidos pelos métodos de extração subcrítica e supercrítica (ESC);
- d) Utilização de diferentes concentrações de etanol + CO₂ na melhor condição de pressão e temperatura determinada pela ESC para verificar o rendimento e as características dos compostos extraídos;

- e) Obtenção de extrato pelo método convencional;
- f) Determinação da curva global de extração do extrato da semente do tamarindo doce, visando o estudo da cinética de transferência de massa e aplicação da modelagem matemática;
- g) Determinação e comparação da atividade antioxidante dos extratos obtidos pelos métodos de extração convencional e extração supercrítica com CO₂ puro e CO₂ + diferentes concentrações de etanol;
- h) Comparação da atividade antioxidante dos diferentes extratos com o hidrotolueno de butila (BHT);
- i) Avaliação do perfil de ácidos graxos dos extratos da semente de tamarindo doce.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TAMARINDO DOCE (*Tamarindus indica*)

O tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.) é uma planta frutífera que pertence à família das Leguminosas, nativo da África Equatorial, Índia e Sudeste Asiático e que se desenvolve em regiões tropicais e subtropicais, com temperatura média ideal de 25 °C. É considerada uma árvore ideal para regiões semiáridas, tolerando de 5 a 6 meses de condições de seca, mas não sobrevive em baixas temperaturas (PEREIRA et al., 2011).

É uma árvore maciça, de crescimento lento e de longa vida, sob condições favoráveis, pode alcançar uma altura de 30 m, um diâmetro de coroa de 12 m e uma circunferência de tronco de 7,5 m. As flores são de colorações quase brancas ou rosadas, agrupadas em cachos irregulares nos ápices dos ramos (TRZECIA et al., 2007). O fruto do tamarindeiro é uma vagem alongada, com 5 a 15 cm de comprimento, com casca pardo-escura, lenhosa e quebradiça, contendo 3 a 8 sementes envolvidas por uma polpa parda e ácida (CARVALHO et al., 2009).

Entre as frutíferas tropicais exóticas, o tamarindo (*Tamarindus indica* L.) destaca-se por apresentar excelentes qualidades nutricionais. Pelo seu agradável aroma e sabor ácido-doce, o fruto é muito utilizado na fabricação de refrescos, sorvetes, pastas, doces, licores, geleias e também como ingrediente em condimentos e molhos (GURJÃO, 2006).

Há diferentes variedades do *Tamarindus indica*, podendo ser divididas em ácidas e doces. As variedades ácidas são comumente encontradas na maioria dos países, pois, desenvolve-se facilmente em locais quentes e ensolarados. As variedades do tipo doce não estão facilmente disponíveis. No entanto, no sertão baiano, na cidade de Santo Sé, a fazenda Bebedouro possui uma área de 2.000 hectares plantada de Tamarindo “doce”, nome atribuído ao fruto por não apresentar a acidez marcante do tamarindo comum. Praticamente não há nenhum estudo relacionado ao aproveitamento tecnológico da polpa e da semente do tamarindo doce (PEREIRA et al., 2011).

Luengthanaphol et al. (2004) relatam que as duas espécies do tamarindo são encontradas em abundância na Tailândia, onde são consumidas na forma de polpa e geleias.

Carvalho et al. (2009) comparam os parâmetros físico-químicos da polpa do tamarindo “doce” com o tamarindo comum (*Tamarindus indica* L.), conforme Tabela 1. Pode-se destacar a grande quantidade de ferro (17,05 mg Fe/100 g) do tamarindo doce em comparação ao tamarindo comum diante de parâmetros físico-químicos tão semelhantes.

Tabela 1 - Medidas físico-químicas do fruto do tamarindo “doce” (n=3).

Variáveis*	Tamarindo “doce”	Tamarindo comum (TACO ¹)
Umidade (g/100 g)	16,80	22,00
Sólidos solúveis totais (g/100 g)	69,76	69,80
Cinzas (g/100 g)	3,66	1,90
Cinzas solúveis (g/100 g)	2,72	-
Cinzas insolúveis (g/100 g)	0,94	-
Ferro (mg/100 g)	17,05	0,60
Fibra alimentar (g/100 g)	5,21	6,04
Fibra insolúvel (g/100 g)	3,02	-
Fibra solúvel (g/100 g)**	2,19	-
Gordura (g/100 g)	0,69	0,50
Carboidratos (g/100 g)	91,01	72,50
Açúcares redutores (g/100 g)	46,84	-
Açúcares não redutores (g/100 g)	44,17	-

¹Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

*Valores em massa úmida.

**Fibra solúvel = pectina; - frações não quantificadas na tabela TACO.

Fonte: CARVALHO, 2009.

Além da riqueza da polpa deste fruto, a semente do tamarindo é uma fonte de diversos compostos químicos importantes para a indústria de alimentos, entre eles os compostos antioxidantes que são responsáveis por retardar reações de oxidação indesejáveis em alimentos (SOUSA, 2008).

As frutas tropicais têm sido aceitas por consumidores mais exigentes, principalmente, no que se refere às características de sabor e aroma, existindo uma tendência de crescimento no mercado nacional e internacional (GURJÃO, 2006).

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo, ficando atrás somente da China e da Índia. Em 2008, foram produzidas 43

milhões de toneladas de frutas, representando 5% da produção mundial (RURALBR, 2009).

A Região do Desenvolvimento do Submédio do São Francisco, formada pelas cidades de Petrolina, Santa Maria da Boa Vista, Orocó e Lagoa Grande (Pernambuco), além de Juazeiro, Curaça, Casa Nova e Sobradinho (Bahia), é a maior produtora de frutas do Brasil, responsável por 30 % das exportações do setor. Em 2008, Petrolina faturou R\$ 570,3 milhões e aumentou sua produção em 36,9 % (IBGE, 2009).

O destaque nacional das cidades de Petrolina e Juazeiro na produção de frutas potencializa investimentos das indústrias de transformação de alimentos (agroindústrias), agregando valor aos produtos agrícolas da região. A exemplo do umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) na Bahia, fruta exótica é transformado em doces, geleias e polpa pela Cooperativa Coopercuc, com produção de 200 toneladas por ano, atendendo ao mercado interno e externo (França, Itália e Áustria), gerando renda para 141 cooperados e 300 famílias da região (COOPERCUR, 2010).

Enquanto a polpa do tamarindo é utilizada, na região do semiárido, para produzir sucos, doces, sorvetes, licores e pastas, suas sementes podem ser usadas como estabilizantes de sucos (CARVALHO et al., 2009). As sementes (Figura 1), no entanto, são consideradas resíduos, descartadas sem nenhum aproveitamento tecnológico na maioria das pequenas propriedades produtoras da região.

Figura 1 - Sementes do tamarindo doce.



O tamarindo ácido é recomendado para evitar efeitos indesejáveis, a exemplo de constipação e diarreia. Devido à presença de antioxidantes, são utilizados pelas indústrias de cosméticos e farmacêutica na Índia (SHANKARCHARYA, 1998). O embrião extraído da semente é utilizado para a produção de goma de tamarindo, mais conhecido como gelose (FAROOQ; FAROOQ, 2003).

Também é fonte de proteínas, podendo ser utilizado como componente de um regime protéico à base de cereais. No entanto, sua baixa digestibilidade dificulta a sua valorização para ser utilizado na alimentação humana. A matéria seca das sementes de tamarindo contém 4 a 11 % de lipídios e 65 a 70 % de polissacarídeos e amilopectina, também são ricos em elementos minerais, sendo os principais o potássio e o cálcio (TRZECIAK et al., 2007).

A semente do tamarindo ainda não é aproveitada de forma eficiente na Região do Submédio do Vale do São Francisco. As indústrias de beneficiamento de frutas destinam seus resíduos para a compostagem, feita de forma artesanal, não obtendo resultados eficientes para as indústrias de grande porte.

O aproveitamento dos resíduos gerados pelas indústrias de alimentos contribui significativamente para a redução dos impactos ambientais, bem como agrega valor a matérias-primas descartadas. Em 2010, o Brasil processou 2.149.817, 48 kg de frutas, segundo o IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas, o que ressalta a importância de estudos que comprovem o potencial que estes resíduos possuem, e quanto o emprego da tecnologia limpa poderá contribuir para o desenvolvimento de regiões produtoras, como o Pólo Econômico Petrolina/Juazeiro.

2.2 ANTIOXIDANTES

De acordo com a Portaria nº. 540 - SVS/MS, de 27 de outubro de 1997, antioxidantes são substâncias que retardam o aparecimento de alteração oxidativa no alimento. Podendo ser definido também como aditivo capaz de prevenir os efeitos nocivos da oxidação, através da inibição da lipoperoxidação, sequestro de radicais livres e/ou quelação de íons metálicos.

Os antioxidantes são importantes para a saúde do ser humano, pois atacam os radicais livres que geram danos ao nosso organismo. Os radicais livres são espécies químicas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados, característica esta que lhes confere instabilidade, meia vida curta e alta reatividade química. Essa alta reatividade química é a grande responsável pela instabilidade da espécie, uma vez que essas moléculas tendem a reagir com outro composto que esteja presente em estruturas próximas à sua formação, passando a comportarem-se, assim, como receptores (oxidantes) ou como doadores (redutores) de elétrons (PEREIRA; RETTORI, 2008).

Os principais radicais livres são: oxigênio singlete, radicais superóxido, hidroxila e semiquinona, óxido nítrico e peroxinitrito.

Os antioxidantes inibem as lesões causadas pelos radicais livres nas células, agem como mecanismos de defesa e podem se adquirir através da dieta ou de forma sintética, hidroxianisol de butila (BHA) e o hidroxitolueno de butila (BHT) (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Podem ser divididos em duas classes: antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Tabela 2). Os enzimáticos são compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Os não enzimáticos são moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2003).

Tabela 2 - Classificação dos antioxidantes.

Não Enzimáticos	Enzimáticos
α -tocoferol (vitamina E)	Superóxido dismutase
β -caroteno	Catalase
Ácido ascórbico (vitamina C)	NADPH-quinona oxidoretudase
Flavonóides	Glutaciona peroxidase
Proteínas do plasma	Enzimas de reparo
Selênio	
Glutationa	
Clorofilina	
L-cisteína	
Curcumina	

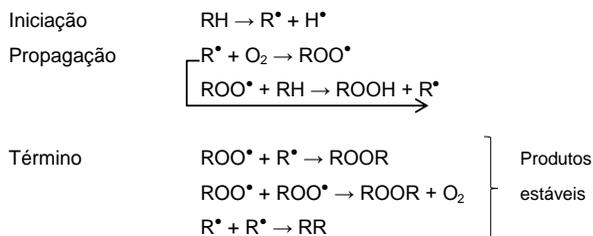
Fonte: MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2003.

Os antioxidantes interagem com os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E e A, os flavonóides e carotenóides são extremamente importantes na intercepção dos radicais livres (BIANCHI; ANTUNES,1999).

Os compostos fenólicos e flavonóides são frequentemente encontrados em frutas e vegetais. Melo et al. (2008) encontraram quantidades significativas de compostos fenólicos em 15 frutas comercializadas no centro de Recife-PE. Vários estudos têm evidenciado o potencial antioxidante de frutas, vegetais, sementes, cascas, bebidas e etc.

Antioxidantes fenólicos funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992), agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (Figura 2).

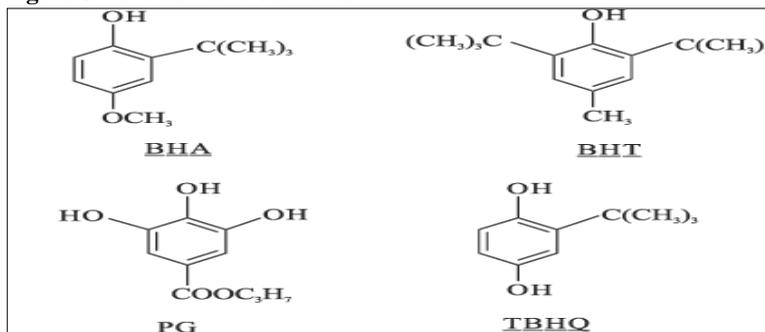
Figura 2 - Mecanismo de reação da oxidação lipídica.



RH= ácido graxo insaturado; R^{\bullet} = radical livre; ROO^{\bullet} = radical peróxido; $ROOH$ = radical hidroperóxido.

A indústria de alimentos utiliza antioxidantes sintéticos para inibir os processos oxidativos em alimentos lipídicos. Esses são compostos fenólicos com substituições variadas no anel (Figura 3) que contribuem para inibir alterações indesejáveis no alimento. No entanto, existe uma demanda por estudos sobre a extração e viabilidade comercial de antioxidantes naturais, uma vez que, os antioxidantes sintéticos tem sido alvo de questionamentos quanto à sua inocuidade (RAMALHO; JORGE, 2006).

Figura 3: Antioxidantes sintéticos.



Fonte: RAMALHO; JORGE, 2006.

Peres et al. (2011) observaram atividade antioxidante, pelo método difenil-picrilhidrazil (DPPH) nas cascas do tamarindo *indica* e a inatividade para a polpa do mesmo. Tsuda et al. (1994) estudaram a extração de antioxidantes do tamarindo indiano e encontraram quatro antioxidantes na casca da semente: (-)-epicatequina, acetato de 3,4-diidroxifenila, 3,4-diidroxibenzoato de metila e 2-hidroxi-3,4-diidroxiacetofenona. Luengthanaphol et al. (2004) observaram a presença de (-)-epicatequina na semente do tamarindo doce tailandês. Siddhuraju (2007) relatou a presença de atividade antioxidante (64,5 a 71,1 %) na semente do *Tamarindus indicas* L.

2.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

2.3.1 Extração com solventes

Os compostos antioxidantes, para serem isolados e identificados, necessitam ser extraídos de suas fontes naturais. A extração com solventes de polaridades diferentes é muito utilizada na área alimentícia para a obtenção de compostos bioativos, como os antioxidantes (ANDREO; JORGE, 2006).

A extração sólido-líquido é feita pelo método de Soxhlet, onde o sólido é envolto por um papel filtro e o solvente orgânico entra em contato com o sólido carregando os compostos miscíveis ao mesmo. Em seguida, o solvente é evaporado obtendo-se a substância de interesse no aparelho (ROCHA, 2000).

A escolha do solvente depende das características químicas, quando conhecidas, da substância a ser extraída. Pode-se utilizar mais de um solvente para melhorar a eficiência do processo. O aumento da solubilidade diminuiu a seletividade do processo e vice-versa (DÍAZ-REINOSO et al., 2006; FERREIRA et al., 1999; FREITAS, 2007; GÓMEZ; OSSA, 2002; MICHIELIN, 2009).

Não existe um único solvente que possua a capacidade de extrair todos ou uma classe específica de antioxidantes naturais, pois há uma grande variedade química e diferentes quantidades destes compostos nos alimentos, além das interações dos compostos antioxidantes com os carboidratos, proteínas, dentre outros compostos. No entanto, os extratos sempre contêm misturas de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido, podendo ser isolados, posteriormente (SHAIDI; NACZK, 1995).

Etapas preliminares, como a desidratação, liofilização, congelamento ou moagem facilitam o processo de extração e

conservação dos compostos antioxidantes, além de permitir uma maior superfície de contato do solvente com as enzimas lipoxigenase, tornando-as inativas. Estas enzimas são responsáveis pela rancidez oxidativa enzimática (JUNTACHOTE; BERGHOFER, 2005; GÁMEZ-MEZA et al., 1999).

O tempo de extração varia de um minuto a 24 horas, sendo um ponto de controle. Extrações prolongadas demais podem permitir a oxidação de compostos fenólicos, comprometendo a eficiência e o rendimento do processo (ANDREO; JORGE, 2006).

A decomposição térmica tem sido a maior causadora da redução de compostos fenólicos que reagem com outros compostos impedindo sua extração. A quantidade de compostos fenólicos diminui com o aumento da temperatura (CONDE et al., 1998).

Nos últimos anos surgiram novas técnicas de extração, como a micro-extração em fase sólida (SPME - *Solid Phase Microextraction*), extração em fase sólida (SPE - *Solid Phase Extraction*), extração assistida por microondas (MAE - *Microwave Assisted Extraction*), extração com fluido supercrítico (SFE - *Supercritical Fluid Extraction*) e extração com líquidos pressurizados (PLE - *Pressure Liquid Extraction*), conhecida também como extração por fluido pressurizado (PFE - *Pressurized Fluid Extraction*) ou extração acelerada com solvente (ASE - *Accelerated Solvent Extraction*). Estas técnicas são mais rápidas que a extração com Soxhlet, utilizam menos solventes, diminuem a degradação da amostra, podem eliminar a etapa de limpeza ou *clean up* da amostra, eliminam etapas de concentração antes das análises cromatográficas, melhoram a eficiência de extração, seletividade e/ou cinética e são de fácil automação (JACQUES, 2005).

Neste trabalho optou-se pela extração com fluido supercrítico e subcrítico com CO₂ puro e extração com diferentes concentrações de etanol pressurizado.

2.3.2 Extração supercrítica

Os fluidos supercríticos são definidos como qualquer substância mantida acima da sua temperatura e pressão críticas, onde as propriedades de líquido e de gás se tornam idênticas. 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. Caso uma destas propriedades (pressão ou temperatura) se encontre abaixo do ponto crítico, diz-se que

a substância está no estado subcrítico (BRUNNER, 1994; ARAÚJO, 1999; BERNARDO-GIL; RIBEIRO; ESQUÍVEL, 2002).

O gás carbônico é o fluido mais utilizado porque não é caro, relativamente não tóxico e não inflamável. Possui temperatura crítica de 31,3 °C e pressão crítica de 7,4 MPa, podendo ser facilmente removido após a extração (MAUL, 1999).

Os fluidos supercríticos possuem baixa viscosidade e alta capacidade de difusão, apresentando melhores propriedades de transporte do que os líquidos, difundindo facilmente nos materiais sólidos, obtendo-se melhores resultados de extração. Devido a sua baixa polaridade é pouco efetivo para extração de compostos com maior polaridade em fontes naturais. Por esta razão, é usado juntamente com cosolventes (RAVENTÓS; DUARTE; ALARCÓN, 2002).

As propriedades dos fluidos supercríticos com maior importância para a extração são a massa específica, a viscosidade e o coeficiente de difusão que tomam valores que se aproximam dos valores dos líquidos, no caso da massa específica e valores próximos dos dos gases, no caso da viscosidade e do coeficiente de difusão. Estas propriedades, particularmente a massa específica, podem ser alteradas com pequenas variações de pressão e/ou temperatura, permitindo o fracionamento do extrato. Na zona próxima do ponto crítico é onde se produzem, com pequenas alterações de pressão e temperatura, as maiores variações da massa específica do fluido supercrítico, e por consequência do seu poder solvente (BERNARDO-GIL; RIBEIRO; ESQUÍVEL, 2002).

A redução do tamanho da partícula contribui para aumentar a área de contato sólido/solvente e diminuir a distância que o soluto deve percorrer no interior da partícula porosa. Partículas grandes fornecem espaços para que o solvente escoe entre as diferentes capas de partículas. Pequenas partículas são, aproximadamente, lâminas achatadas, formando capas densas que não permitem a formação de canais para o escoamento de fluidos. A redução da granulometria do sólido não pode ser realizada indefinidamente, pois partículas muito pequenas podem formar aglomerados e interromper a passagem do solvente pelo leito, formando caminhos preferenciais deste na matriz, além de proporcionar perda de compostos voláteis (BRUNNER, 1994; MARTÍNEZ, 2005). O tamanho da partícula interfere na qualidade do extrato obtido e no rendimento do processo de extração.

Compostos polares, como flavonóides e ácidos fenólicos, são menos solúveis no CO₂ supercrítico, necessitando a utilização de um cosolvente para modificar a extração destes compostos (TSAO; DENG, 2004; DÍAZ-REINOSO et al., 2006). Quando a extração ocorre com a

matéria-prima úmida há uma competição entre a água e o CO₂, pois, a diferença de polaridade entre estas moléculas promove uma competição pelo soluto na matriz vegetal, diminuindo o rendimento da extração de compostos semelhantes ao fluido supercrítico (POURMORTAZAVI; HAJIMIRSADEGHI, 2007).

Diversos solventes orgânicos podem ser utilizados como modificadores na extração supercrítica. O etanol é o solvente mais empregado, pois atende as exigências legais para o uso de solventes orgânicos em insumos para a indústria de alimentos (MICHIELIN, 2009).

Luengthanaphol et al. (2004) observaram um melhor rendimento da extração de compostos antioxidantes da semente do tamarindo utilizando o CO₂ supercrítico e modificador etanol a 10 %. Tsuda et al. (1994) relataram que solventes com menor polaridade, como o acetato de etila, normalmente extraem compostos com maior atividade antioxidante que a mistura com etanol ou metanol, ou metanol sozinho para sementes de tamarindo.

A indústria de alimentos tem interesse na extração supercrítica porque produz extratos livres de resíduos e pode ser conduzida a baixas temperaturas, preservando a qualidade de compostos termo sensíveis. O inconveniente deste tipo de extração é o uso da alta pressão, o que torna o processo caro devido ao uso de equipamentos mais sofisticados (ANDREO; JORGE, 2006).

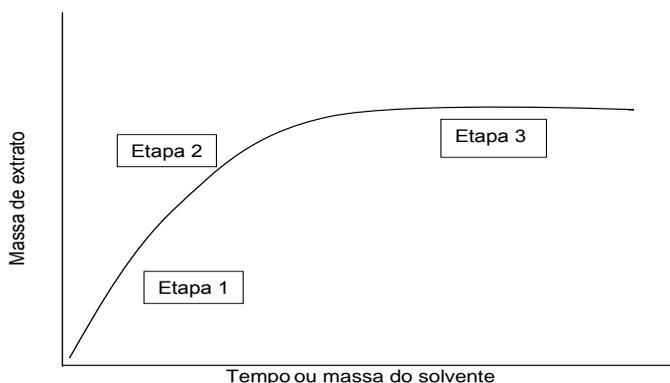
2.3.3 Curvas de extração

O estudo da cinética da extração pode ser realizado empregando-se modelos matemáticos que representam curvas globais de extração (MARTÍNEZ, 2005) e permitem a predição do comportamento do sistema e, conseqüentemente, da taxa de extração em escala maior, fornecendo parâmetros importantes para projetos de unidades industriais, tais como dimensões de equipamentos, vazão de solvente e tamanho de partícula.

As curvas de extração obtidas em processos com fluidos supercríticos são determinadas pela massa de extrato obtida em função do tempo ou da massa de solvente utilizada, conforme demonstrado na Figura 4 (BRUNNER, 1994). São caracterizadas por três períodos: a etapa 1 - aproximadamente linear; a etapa 2 - não linear; e a etapa 3 - taxa nula (BRUNNER, 1994; SOVOVÁ, 1994; FERREIRA et al., 1999; FERREIRA; MEIRELES, 2002; CAMPOS et al., 2005).

- a) Etapa 1 – período de taxa constante (CER) - onde a superfície externa das partículas está completamente coberta em óleo, devido à transferência de massa por convecção na fase fluida (BRUM, 2010).
- b) Etapa 2 – período de taxa decrescente (FER) – quando partes sem óleo aparecem na superfície da partícula. O soluto é facilmente esgotado na entrada do extrator e inicia o mecanismo de difusão (GENEMA, 2005).
- c) Etapa 3 – período difusional (DCP) - onde a taxa de transferência de massa é controlada principalmente pelo fenômeno difusivo no sólido (remoção do soluto da parte interna da partícula sólida) (BRUNNER, 1994; FERREIRA et al., 1999; FERREIRA; MEIRELES, 2002).

Figura 4 - Curva de extração.



A representação da curva de extração pode ser utilizada na determinação de parâmetros de processo, tais como tempo de extração, caracterização das etapas de extração supercrítica e determinação da solubilidade, como também na modelagem da transferência de massa do sistema (SILVA, 2004).

O poder de solubilização e a seletividade do solvente quanto aos componentes de interesse e a capacidade de difusão destes no fluido supercrítico também são fatores determinantes para o processo de extração. A seleção correta destes parâmetros é crucial para a otimização da extração dos compostos desejados em menor tempo (REVERCHON; DE MARCO, 2006).

2.4 MODELAGEM MATEMÁTICA

Uma das funções da modelagem matemática é o auxílio no processo de ampliação da escala laboratorial para piloto ou industrial, uma vez que o investimento em uma unidade extratora de alta pressão é muito elevado em comparação com a extração convencional, já existente. Por isto, são várias as propostas de modelagem matemática para as curvas de extração supercrítica.

Segundo Martínez et al. (2003), a modelagem matemática de dados experimentais de ESC consiste numa ferramenta muito útil, uma vez que tem como principal objetivo a determinação de parâmetros para projeto de processo, tais como dimensões de equipamentos, vazão de solvente e tamanho de partícula.

Dentre os vários modelos existentes, foram escolhidos modelos baseados em diferentes maneiras de interpretação dos dados colhidos da extração supercrítica:

- a) modelo com partículas rompidas e intactas, baseado na equação diferencial de transferência de massa no leito de extração, como o Modelo de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008);
- b) modelo empírico, baseado na equação da cinética de crescimento microbiano de Monod (ESQUÍVEL, BERNARDO-GIL E KING, 1999); e
- c) modelo difusivo, baseado na transferência de massa na partícula como uma analogia à transferência difusiva de calor (Crank, (1975) adaptado por Reverchon (1997)).

A maioria dos modelos disponíveis na literatura trata o extrato como uma substância pura, apesar do fato dele poder conter vários compostos de natureza química diferentes. Sendo assim, as dificuldades em modelar sistemas complexos residem no número elevado de componentes na mistura e em estabelecer as interações entre os componentes do extrato, o solvente e a fase sólida (BRUNNER, 1994; FERREIRA et al., 1999; MARTINEZ et al., 2003).

A explicação detalhada de cada modelo matemático utilizado neste trabalho, está no Anexo I, onde encontra-se todas as equações detalhadas e as considerações necessárias para aplicação de cada modelo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos deste trabalho foram realizados em três instituições de ensino: Universidade Tiradentes (UNIT) em Aracaju – SE, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em Florianópolis – SC e no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano (IF Sertão-PE), em Petrolina – PE.

A caracterização da matéria-prima e a modelagem matemática foram realizadas na UFSC. As extrações supercrítica com CO₂ e com etanol foram realizadas na UNIT, assim como as análises cromatográficas dos extratos. A determinação de umidade, a extração convencional e a determinação dos compostos fenólicos foram realizadas no IF Sertão-PE.

3.1 AQUISIÇÃO E PREPARAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

A matéria-prima foi coletada na Fazenda Bebedouro, na cidade de Sento Sé – BA, nos meses de dezembro de 2011 e janeiro de 2012, época da safra (Figura 5). As sementes do tamarindo doce (*Tamarindus indica*) foram retiradas da polpa de forma manual e armazenadas em refrigerador a -4 °C.

Figura 5 - a) Fruto do tamarindeiro



b) Polpa do tamarindo doce.



Uma parte das sementes foi desidratada a 40 °C, por 24 horas, em estufa (Icamo modelo 4, 110V, qualidade famo) para posterior análises dos testes preliminares. Foram armazenadas em um frasco transparente revestido de papel alumínio ao abrigo da luz e do calor. As sementes foram trituradas em um moinho de facas (Figura 6) e separadas em um agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgia Ltda), com o intuito de fracionar os diferentes tamanhos de partículas, com peneiras de 20 a 80 Mesh.

Figura 6 - Moinho de facas.



3.1.1 Determinação do teor de umidade e substâncias voláteis da matéria-prima in natura e seca

O teor de umidade foi determinado pelo método da secagem direta em estufa a 105 °C - descrito pelo Instituto Adolfo Lutz, (BRASIL, 2005), no Laboratório de Pesquisa do IF Sertão-PE.

Procedimento: Mediu-se de 2,5 gramas da amostra em cápsula de porcelana, previamente tarada. A amostra foi aquecida durante 3 horas, a 105 °C. Resfriou em dessecador até a temperatura ambiente e mediu-se. A operação de aquecimento e resfriamento foi repetida até massa constante.

O teor de umidade ou substâncias voláteis a 105 °C foi calculado de acordo com a Equação 1:

$$\text{Teor de umidade e voláteis (\%)} = \frac{(m_i - m_f) \times 100}{m_i} \quad (1)$$

Sendo, m_i é a massa inicial da amostra (g) e m_f é a massa final da amostra (g). O experimento foi realizado em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão. O teor de umidade e substâncias voláteis foi calculado para a semente triturada in natura e seca, conforme item 3.1.

3.2 TESTES PRELIMINARES

Foram realizadas extrações preliminares com o objetivo de determinar as condições adequadas de extração, onde foram avaliados os rendimentos dos extratos obtidos das amostras úmida e seca, o tamanho do diâmetro médio da partícula, massas específicas real e aparente,

porosidade do leito, massa de sólido para a formação do leito fixo e tempo, determinado através da curva cinética da semente do tamarindo doce.

3.2.1 Extração supercrítica preliminar

Foram realizados ensaios prévios de extração com o objetivo de definir condições operacionais adequadas com o fluido supercrítico, como a umidade das amostras e tempo de extração para as curvas de rendimento.

3.2.1.1 Equipamento de extração supercrítica

O equipamento de extração supercrítica é composto por um cilindro de CO₂ com 99,9 % de pureza (White Martins, Brasil), uma fita de aquecimento, uma bomba seringa Teledyne Isco, modelo 500D *syringe pump*, uma bomba de líquido HPLC Lab Alliance Series III, o extrator de aço inox e dois banhos termostáticos. O primeiro da marca Julabo, modelo F32, utilizado para resfriar o solvente antes de entrar na bomba seringa e o segundo da marca Quimis aparelhos científicos Ltda., modelo Q214-M2, 220V, 2100W, para manter o extrator aquecido nas temperaturas desejadas, conforme ilustrado na Figura 7.

Figura 7 - Extrator supercrítico.



3.2.1.2 Avaliação da influência da umidade nos rendimentos das extrações ESC

As curvas das ESC das amostras úmida e seca foram obtidas em extrator com coluna de 18 cm de altura e diâmetro de 2,1 cm, o mesmo utilizado para todos os experimentos. Mediu-se $25 \pm 0,01$ g de semente

de tamarindo doce, com diâmetro médio de 397,6 μm , conforme descrito no item 3.2.2.1. Os frascos coletores foram previamente pesados em balança analítica e a coleta do soluto ocorreu em intervalos de tempo de 5 a 30 minutos, durante 4 horas. Após a coleta, os frascos foram novamente pesados para se obter a massa de extrato em função do tempo de extração.

As extrações preliminares com as amostras úmida e seca foram realizadas nas condições intermediárias de temperatura e pressão, 35 °C e 175 bar, utilizadas posteriormente nos ensaios de rendimento.

Os rendimentos dos extratos obtidos com a utilização das amostras úmida e seca determinaram a escolha da amostra para os ensaios posteriores. Estes foram calculados de acordo com a Equação 2:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{(mf - mi) \times 100}{mi} \quad (2)$$

3.2.2 Caracterização do leito de partículas

A caracterização das partículas que formam o leito da extração supercrítica é necessária para compreender a cinética de extração e os fenômenos de transferência de massa do processo, através da análise dos parâmetros como temperatura, pressão, tempo e rendimento de extração.

A massa de sólido para a formação do leito fixo foi estabelecida levando-se em consideração o rendimento de extração e a relação altura x diâmetro da coluna ocupada pela amostra, que deve ser, de pelo ao menos, o dobro do diâmetro do extrator, condição necessária para aplicação do Modelo Matemático de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008).

3.2.2.1 Determinação do diâmetro médio de partículas (d_s)

A semente do tamarindo doce foi triturada em um moedor de facas na Universidade Federal de Sergipe (UFS) e separadas em um agitador de peneiras (Bertel Indústria Metalúrgia Ltda.), de 20 a 80 Mesh, no Núcleo de Estudos em Sistemas Coloidais na UNIT. Mediu-se em torno de 100 g de sementes trituradas em balança semi-analítica, com precisão de duas casas decimais. As peneiras foram agitadas durante 30 minutos. Em seguida, mediram-se as massas retidas em cada peneira para o cálculo do diâmetro médio de partícula, conforme Equações 3 e 4:

$$ds = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta li}{di}}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta li}{di^3}}} \quad (3)$$

$$\Delta li = \frac{mi}{M}, \quad (4)$$

Onde ds é o diâmetro médio superficial das partículas (mm), mi é a massa de amostra retida na peneira i (g), M é a massa total de amostra (g), di é o diâmetro da peneira i (mm) e n é o número total de frações.

O experimento foi realizado em duplicata e o resultado expresso como média.

3.2.2.2 Determinação da massa específica aparente (ρa)

A massa específica do leito de partículas do tamarindo doce foi obtida através da relação da massa de amostra utilizada no extrator e o volume ocupado pelo leito (Equação 5) incluindo, assim, os poros do leito e não os poros do interior das partículas.

$$\rho a = \frac{\text{massa da amostra em gramas}}{\text{volume do leito em cm}^3} \quad (5)$$

A massa da amostra foi medida em balança analítica e o volume medido através do diâmetro e altura do leito com o uso de um paquímetro.

3.2.2.3 Determinação da massa específica real (ρr)

A massa específica real foi determinada em picnômetro de gás He, Figura 8, (AccuPyc II 1340, Micrometrics), no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica na UFSC, em duplicata.

O resultado foi expresso como média.

3.2.2.4 Porosidade do leito (ϵ)

A porosidade do leito foi determinada pela massa específica real e aparente da amostra da semente do tamarindo doce, incluindo os poros do leito e do interior das partículas, através da Equação 6:

$$\varepsilon = \frac{1 - \rho a}{\rho r} \quad (6)$$

ρa = massa específica aparente

ρr = massa específica real

Figura 8 - Picnômetro de gás He.



3.3 EXPERIMENTO CINÉTICO - CURVA DE EXTRAÇÃO PRELIMINAR E PARÂMETROS CINÉTICOS

A curva cinética da ESC foi obtida em extrator descrito no item 3.2.1.1. Utilizou-se a amostra seca por apresentar um melhor rendimento na extração, conforme descrito no item 3.2.1.2. Mediu-se $25 \pm 0,01$ g da semente do tamarindo doce, com as características determinadas no item 3.2.2. Os frascos coletores foram previamente medidos em balança analítica e a coleta do soluto ocorreu em intervalos de tempo de 15 a 30 minutos, durante aproximadamente 7 horas, com vazão de $1,2 \pm 0,2$ g/mL, atingindo a etapa DCP da curva de extração. Após a coleta, os frascos foram novamente medidos para obtenção da massa de extrato em função do tempo de extração.

A cinética de extração foi realizada a 250 bar e 50 °C, condições máximas utilizadas posteriormente no planejamento experimental. As curvas de extração podem ser construídas através da massa de extrato acumulada em função do tempo de extração ou da massa de CO₂ consumido, ou ainda pelo rendimento de extração versus a razão massa de solvente por massa de amostra (MICHIELIN et al., 2005; KITZBERGER et al., 2009; MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009; BENELLI et al., 2010).

O gráfico da cinética de extração deste experimento foi construído a partir da massa de extrato acumulada em função do tempo de extração, conforme Figura 11 no item 4.3. A partir da análise da curva cinética, determinou-se o tempo de extração para as curvas de rendimento.

Os parâmetros cinéticos (taxa de transferência de massa da etapa CER e os tempos t_{CER} e t_{FER}) foram calculados de acordo com Mezzomo, Martínez, Ferreira (2009) e Benelli et al. (2010). A taxa de transferência de massa na etapa CER (M_{CER}) foi obtida a partir de regressão linear da curva de extração no período CER, realizada com auxílio do software Microsoft Excel, enquanto a concentração de soluto na fase solvente na etapa CER (Y_{CER}) foi determinada pela razão entre M_{CER} e Q_{CO_2} . Os tempos t_{CER} e t_{FER} representam o final das etapas constante e decrescente de extração, respectivamente.

3.3.1 Determinação da solubilidade preliminar

A solubilidade é um parâmetro para aplicação do Modelo Matemático de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008). Esta foi chamada de preliminar pelo fato de não ser o objetivo do trabalho. A solubilidade preliminar foi obtida pelo método dinâmico de extração, onde a solubilidade é representada pela inclinação das curvas de extração na etapa de taxa constante (CER) porque nesta etapa garante um tempo de contato suficiente entre as fases, onde o solvente deixa o extrator saturado com o soluto (BRUNNER, 1994; FERREIRA et al., 1999; JOCHMANN, 2000).

Segundo Danielski (2002), o tempo de contato entre as fases, necessário para alcançar o equilíbrio, é de 0,9 g/min a 1,4 g/min para a solubilidade de oleoresinas em CO_2 supercrítico. Por isto, a vazão determinada para este experimento foi de $1,1 \pm 0,2$ g/min, promovendo a saturação do solvente com o óleo na saída do extrator.

A curva da cinética de extração foi utilizada para a determinação da solubilidade preliminar (Y^*) deste experimento.

3.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE LIPÍDEOS (EXTRATOS)

A quantidade de lipídeos foi determinada pelo método da extração direta em Soxhlet (convencional), descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005) e pelo método da extração supercrítica e subcrítica com CO_2 puro e combinado com álcool etílico.

Luengthanaphol et al. (2004) e Tsuda et al. (1994) realizaram extração supercrítica de antioxidantes da semente do Tamarindo ácido (*Tamarindus indica* L.) com diversos cosolventes, obtendo os melhores rendimentos para o álcool etílico. Por isto, este solvente foi escolhido, em diferentes concentrações, para a extração na melhor condição de pressão e temperatura.

3.4.1 Determinação da massa específica do solvente supercrítico (ρ_{CO_2})

A determinação da massa específica do solvente supercrítico foi realizada nas condições de operações através da equação de Angus, Armstrong e De Reuck (1976). A massa específica do solvente é utilizada para avaliar a influência da pressão e da temperatura na variação da massa específica do solvente e, conseqüentemente, na solubilização do soluto, parâmetro aplicado no modelo matemático de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008).

3.4.2 Extração direta em Soxhlet (convencional)

A extração direta em Soxhlet foi realizada de acordo com o descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2005) no Laboratório de Pesquisa do IF Sertão-PE.

Procedimento: mediu-se 3 g da amostra em cartucho de Soxhlet. Transferiu-se o cartucho para o aparelho extrator tipo Soxhlet. Acoplar o extrato ao balão de fundo chato previamente tarado a 40 °C. Adicionar o solvente (etanol) em quantidade suficiente para um Soxhlet e meio. Adaptar a um refrigerador de bolas. Manter, sob aquecimento em chapa elétrica, a extração contínua por 5 horas (duas a três gotas por segundo). Retirar o cartucho, destilar o solvente e transferir o balão com o resíduo extraído para uma estufa a 40 °C. Manter por cerca de uma hora. Resfriar em dessecador até a temperatura ambiente. Pesas e repetir as operações de aquecimento por 30 minutos na estufa e resfriamento até massa constante (BRASIL, 2005). O cálculo foi realizado de acordo com a Equação 7:

$$\text{Lipídeos ou extrato etéreo (\%)} = \frac{(100 \times N)}{P} \quad (7)$$

N = gramas de lipídeos

P = gramas da amostra

O experimento foi realizado em triplicata e o resultado expresso como média.

3.4.3 Delineamento experimental e rendimento das extrações com CO₂ puro e CO₂ + diferentes concentrações de etanol

As extrações ESC com CO₂ puro e combinado com álcool etílico foram realizadas no Núcleo de Estudos em Sistemas Coloidais na Universidade Tiradentes, Aracaju-SE.

Determinou-se um delineamento experimental $2^2 + 3$ repetições no ponto central, com parâmetros controlados, com duas variáveis de entrada, a temperatura e a pressão, em três níveis (-1, 0 e +1), e o rendimento como variável de saída para as extrações com CO₂, conforme Tabelas 3 e 4. As temperaturas utilizadas foram: 20, 35 e 50 °C e as pressões: 100, 175 e 240 bar. Estes parâmetros foram selecionados de forma que abrangessem uma ampla faixa de temperatura, pressão e massa específica do solvente CO₂.

Tabela 3 - Variáveis e níveis do delineamento experimental.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Temperatura	20°C	35°C	50°C
Pressão	100 bar	175 bar	250 bar

Os parâmetros controlados (diâmetro da partícula, massa de sólido para formação do leito fixo, tempo, vazão e umidade da amostra) foram selecionados com os dados obtidos dos testes preliminares.

Tabela 4 - Matriz de planejamento fatorial $2^2 + 3$ pontos centrais

Experimentos	Temperatura	Pressão
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

Com os dados obtidos dos rendimentos das extrações ESC e através da Análise de variância (ANOVA), construíram-se o Gráfico de

Pareto e a Superfície de Resposta, descrito no item 3.6, para avaliar a influência da temperatura e da pressão sobre os rendimentos obtidos das extrações com CO₂ puro com o objetivo de determinar a melhor condição de temperatura e pressão para otimização do processo de extração com CO₂ e etanol, sendo considerados os mesmos parâmetros controlados.

Conforme resultados obtidos no item 4.4, a melhor condição foi 250 bar e 50 °C. A partir daí, construiu-se a matriz de planejamento, conforme a Tabela 5.

Tabela 5 - Matriz de planejamento da extração com CO₂ + álcool etílico.

Experimentos	Concentração de etanol
1	10%
2	25%
3	50%
4	75%
5	100%

Os rendimentos das extrações supercrítica com CO₂ e com álcool etílico foram calculados de acordo com a Equação 2.

3.4.4 Curvas de extração

As curvas de extração foram construídas através do *software* Microsoft Excel para avaliação de rendimento, avaliação estatística Análise de Variância (ANOVA), da influência da temperatura e da pressão sobre o rendimento (massa do extrato obtido na extração supercrítica), com nível de significância 5 %, através do *software* Statistica versão 7.0 e para a modelagem matemática.

Para a modelagem matemática das curvas de extração utilizou-se os modelos de Martínez et al. (2003), Esquível, Bernardo-Gil e King. (1999), Crank (1975) e Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008). Estes modelos foram escolhidos por apresentarem diferentes maneiras de interpretação dos dados.

A modelagem matemática das curvas de extração foi realizada através do *software* Mass Transfer, desenvolvido por Correia, Michielin e Ferreira (2006) no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica - LATESC/EQA-UFSC, que utiliza o método da máxima

verossimilhança para minimizar a soma dos quadrados dos desvios calculados (KITZBERGER et al., 2009).

Para aplicação dos modelos são necessários parâmetros que foram determinados experimentalmente ou calculados a partir dos dados experimentais. O t_{cer} foi calculado através de um método de otimização global (MARTÍNEZ; MARTÍNEZ, 2008), enquanto o M_{cer} e os rendimentos da extração na etapa CER (X_{cer}) foram determinados a partir do t_{cer} e do ajuste de tendência das curvas de extração na etapa CER (MEZZOMO, 2008). A partir do valor de M_{cer} pode-se obter o valor de Y_{cer} através da Equação 8:

$$Y_{cer} = \frac{M_{cer}}{Q_{co_2}} \quad (8)$$

O Y_{cer} representa a concentração de soluto na fase solvente na etapa CER. A solubilidade preliminar (Y^*) é determinada em condições que garantem a máxima concentração de soluto na fase solvente, em equilíbrio com a concentração do extrato presente na fase sólida (REVERCHON, 1997).

3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS OBTIDOS PELOS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO COM SOLVENTES (MÉTODO DE SOXHLET) E PELA EXTRAÇÃO SUPERCRTICA

3.5.1 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pelo método indireto de determinação de compostos fenólicos (Folin-Ciocalteu) e pelo método direto de sequestro de radicais livres (DPPH - 2,2 difenil-1-picrilhidrazil), no IF Sertão-PE, em Petrolina.

3.5.1.1 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Total (TFT)

A reação com o reagente de Folin-Ciocalteu baseia-se no princípio que, em meio alcalino, os compostos fenólicos presentes na amostra reduzem a mistura dos ácidos fosfotungstícos e fosfomolibdicos do reagente Follin em óxidos de tungstênio e molibdênio de cor azul, tornando possível realizar leituras de absorbância na faixa visível do espectro em 765 nm (SINGLETON; ROSSI, 1965; PESCHEL et al., 2006).

A determinação dos compostos fenólicos foi feita pelo método Folin-Ciocalteu. Os extratos foram diluídos em etanol PA (Hexis S. A Brasil) até uma concentração de 1,6667 g/L. Preparou-se três reagentes:

- Reagente de Folin-Ciocalteu: adquirido pronto para uso.
- Reagente carbonato de sódio: solução de 20 % de carbonato de sódio anidro em água.
- Padrão de ácido gálico: solução de 5000 mg de ácido gálico puro diluído em 1 L de água (5000 ppm de ácido gálico)

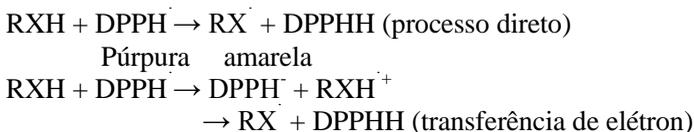
As amostras foram diluídas em ultrassom, seguindo o procedimento: pipetar 100 µL da amostra em balão volumétrico de 10 mL, adicionar 2 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e misturar bem. Esperar 30 segundos e, antes de 8 minutos, acrescentar 1,5 mL da solução de carbonato de sódio a 20 %. Esperar por duas horas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Fazer a leitura da absorbância 765 nm. Por meio da correlação com a curva padrão de ácido gálico, determinou-se os compostos fenólicos em mg equivalente de ácido gálico por g de extrato, através da Equação 9 . O branco deverá ser preparado seguindo o mesmo procedimento, substituindo apenas a amostra por água destilada. Construir a curva absorbância X quantidade de substâncias fenólicas.

$$TFT \left(mg \frac{EAG}{g_{EXT}} \right) = \frac{[EAG \cdot 1000]}{D_{EXT}}, \quad (9)$$

Onde EAG: Equivalente em ácido gálico obtido através da curva padrão (mg EAG/L), D: diluição das amostras (mg_{EXT}/L).

3.5.1.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

O método 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) consiste na capacidade do DPPH reagir com doadores de H⁺ ou de elétrons, sendo então reduzido, mudando sua coloração de púrpura para amarela. O radical DPPH é facilmente detectado por espectroscopia devido a sua intensa absorção na região do visível:



A absorção máxima ocorre em 517 nm. A solução estoque da amostra 1 mg/mL foi diluída em concentrações de 500, 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL em uma solução de DPPH na concentração 0,3mM, incubadas por 30 minutos a 25 °C. O cálculo da porcentagem de atividade antioxidante foi realizado de acordo com a Equação 10 (MENSOR et al., 2001).

$$AA \% = 100 - [(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) * 100 / Abs_{controle}] \quad (10)$$

A concentração das amostras necessárias para captar 50 % do radical livre DPPH (EC_{50} - Effective concentration) é calculada por análise de regressão exponencial e linear (MENSOR et al., 2001). Os valores de atividade antioxidante calculados (EC_{50}) são referentes à concentração de extrato testado entre 50 e 5 mg/mL, para a extração supercrítica com CO_2 puro, e entre 25 e 5 mg/mL para a extração com etanol, porque é o momento em que a curva que representa a concentração da amostra x absorbância apresenta comportamento linear. Os resultados encontrados de concentração efetiva (EC_{50}) e atividade antioxidante (AA %) para os extratos analisados foram expressos como média.

3.5.2 Análise cromatográfica acoplada com espectrometria de massa

O perfil de ácidos graxos dos extratos do tamarindo doce foi realizada no Laboratório de Cromatografia Gasosa da Universidade Tiradentes.

O cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GC/MS Varian Saturn 2100D) possui tecnologia “Ion Trap” e sistema de amostragem “Purge and Trap”, equipado com uma coluna capilar Rtx 5MS (30 m x 0,25 mm – filme 0,25 µm), Split a uma taxa de 1:30. O gás de arraste é o hélio (He), com fluxo constante de 1,2 mL/min). A coluna foi aquecida a 60 °C por 3 minutos, programada a 5 °C por min. até 220 °C e mantida a 220 °C por 5 minutos. Os extratos diluídos em acetato de etila foram injetados a 250 °C.

A identificação dos compostos químicos foi baseada na comparação do espectro de massa da substância com banco de dados do sistema GC-MS (Data Analysis and Technical Graphics – Origin®) e tempo de retenção. A quantificação da composição química dos extratos obtidos foi feita pela proporção relativa às áreas obtidas para cada composto nos devidos cromatogramas.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das extrações ESC com CO₂ puro foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) ao nível de 5 % de significância ($p < 0,05$), com o auxílio do software Statistica 7.0 (Statsoft Inc., USA). Caso exista diferença significativa ao nível de 5 % de significância, pode-se dar continuidade aplicando o teste de Tukey o qual avalia as diferenças entre os pares de tratamentos.

O Gráfico de Pareto e a Superfície de Resposta foram construídos pelo software Statistica 7.0 para análise da influência da temperatura e pressão sobre os rendimentos da extração e determinação do ponto ótimo do processo de extração com CO₂. O delineamento experimental foi determinado conforme item 3.4.3.

Foi realizado também a ANOVA para os rendimentos obtidos através da extração com CO₂ em diferentes concentrações de etanol, considerando estes como experimentos de fator único, seguido pelo teste de Tukey avaliando-se as diferenças entre os tratamentos.

Para os resultados da atividade antioxidante, aplicou-se a ANOVA para todas as técnicas de extração. Se, segundo a ANOVA existe diferença significativa ao nível de 5 % de significância ($p < 0,05$) entre as médias dos tratamentos pode-se dar continuidade à análise aplicando o teste de Tukey.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TEOR DE UMIDADE E SUBSTÂNCIAS VOLÁTEIS DA MATÉRIA PRIMA *IN NATURA* E SECA

Os teores de umidade e substâncias voláteis da matéria prima *in natura* e seca, Figura 9, estão apresentados na Tabela 6, como média.

Tabela 6 - Teor de umidade e substâncias voláteis.

Tamarindo doce	Umidade (%)
<i>In natura</i>	10,38
Seco	5,00

Alguns autores têm discutido a interferência da água encontrada em alimentos na extração supercrítica quando o solvente é o dióxido de carbono, uma vez que, a diferença de polaridade entre estas moléculas promove uma competição pelo soluto na matriz vegetal, diminuindo o rendimento da extração de compostos semelhantes ao fluido supercrítico (POURMORTAZAVI; HAJIMIRSADEGHI, 2007).

Figura 9 - Pó da semente do tamarindo doce seca.

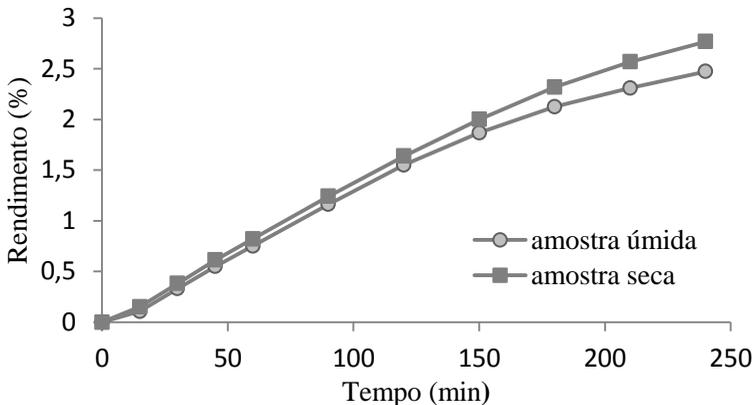


4.2 TESTES PRELIMINARES

4.2.1 Extração supercrítica preliminar

Os rendimentos obtidos para as extrações realizadas com as amostras úmida e seca foram 2,47 % e 2,77 %, respectivamente. Com a semente de tamarindo seca a 40 °C, por 24 horas, obteve-se um rendimento, aproximadamente, 12 % maior em comparação com o rendimento obtido para semente úmida, conforme Figura 10.

Figura 10 - Rendimento das extrações das amostras úmida e seca.



Com base nos resultados obtidos, a umidade presente na amostra apresentou influência no rendimento da extração. Por esta razão, nos experimentos posteriores a matéria-prima utilizada foi desidratada em estufa, conforme item 3.1.1.

4.2.2 Caracterização do leito de partículas

Foram realizados ensaios prévios para a determinação das condições operacionais de extração da semente do tamarindo doce. As análises realizadas foram: diâmetro médio das partículas, massa específica real, massa específica aparente, porosidade do leito e massa de sólido para a formação do leito fixo. Os resultados encontrados são apresentados na Tabela 7 abaixo:

Tabela 7 - Caracterização do leito de partículas.

$ds^{(1)}$ (μm)	$\rho r^{(2)}$ (g/cm^3)	$\rho a^{(3)}$ (g/cm^3)	$\epsilon^{(4)}$	$m^{(5)}$ (g)
397,6	$1,45 \pm 0,004$	0,40	0,72	25,00

⁽¹⁾ ds = diâmetro médio das partículas; ⁽²⁾ ρr = massa específica real; ⁽³⁾ ρa = massa específica aparente; ⁽⁴⁾ ϵ = porosidade do leito; ⁽⁵⁾ m = massa de sólido p/ formação leito fixo.

A matriz sólida, após a extração preliminar com fluido supercrítico, foi avaliada visualmente, onde observou-se a compactação adequada e coloração homogênea tanto na direção radial quanto na direção longitudinal, não indicando a formação de caminhos preferenciais de extração.

O diâmetro médio da partícula foi definido pelas peneiras de 24 a 48 mesh, uma vez que estas contiveram a maior quantidade de partículas, resultando em aproximadamente 88 % do rendimento da moagem do tamarindo doce.

Luengthanaphol et al. (2004) utilizaram a película da semente do tamarindo doce para extração de antioxidantes com amostra retida em peneiras de 40 a 70 mesh. No entanto, a película da semente é muito facilmente triturada a pequenos diâmetros. Reverchon e Marrone (2001) afirmam que em leitos com partículas muito pequenas, há a possibilidade de formação de caminhos preferenciais para o solvente, que não entra em contato com todo o soluto disponível, reduzindo o rendimento do processo.

O volume ocupado pela amostra no leito fixo, necessário para o cálculo da massa específica aparente, foi de $62,34 \text{ cm}^3$, sendo 18,0 cm de altura e 2,1 cm de diâmetro e a massa da amostra utilizada nos testes preliminares foi de 25 g. Estas medidas garantem quantidades suficientes de extratos para quantificação e análises posteriores, além de atender a relação necessária entre a altura e o diâmetro do leito fixo para desprezar a transferência de massa nas direções radial e tangencial, facilitando o escoamento do solvente com velocidade na direção axial, condição para aplicação do modelo de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008).

A massa específica real e a porosidade do leito são utilizadas para explicar o comportamento da amostra durante a transferência de massa para o fluido supercrítico, através da aplicação dos modelos matemáticos.

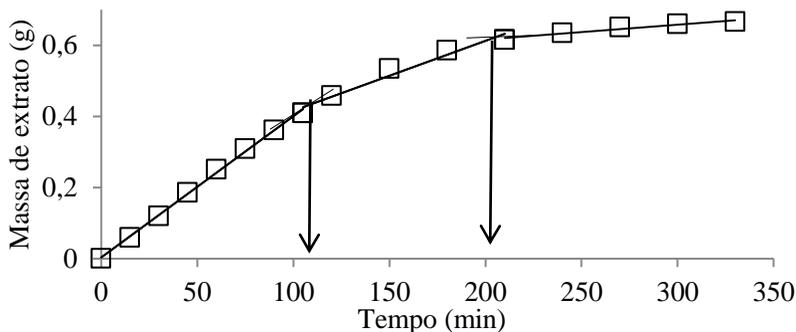
Estas características também são importantes para a padronização da amostra de tamarindo doce utilizada durante o experimento, facilitando a discussão dos parâmetros e resultados obtidos da extração supercrítica.

4.3 CURVA CINÉTICA E PARÂMETROS CINÉTICOS DE EXTRAÇÃO

Para avaliação dos rendimentos das curvas de extração e da influência de parâmetros, como temperatura e pressão, é necessário a fixação de um tempo de extração. Este tempo é fixado através das fases da curva cinética que são divididas em três etapas, conforme descrito no item 2.3.3.

Na etapa de taxa constante de extração (CER), o soluto presente na superfície das partículas é transferido por convecção para o solvente, de acordo com a Figura 11. Esta etapa ocorre entre 0 e 105 minutos. Na etapa decrescente (FER), ocorre uma exaustão do soluto na superfície da partícula e dá-se início a transferência de massa por difusão, onde o solvente penetra na matriz sólida através dos espaços livres (porosidade), solubilizando o soluto e retornando à superfície da partícula, que ocorre entre 105 e 202 minutos. A última etapa possui taxa de extração quase nula ou difusional (DCP), onde a curva se aproxima do valor que representa o conteúdo teórico de soluto extraível (X_0) e ocorre a partir de 202 minutos. A cinética de extração deste experimento foi realizada a 250 bar e 50 °C e $1,2 \pm 0,2$ g/min, conforme mostrada na Figura 11.

Figura 11 - Curva cinética da semente do tamarindo doce a 250 bar e 50 °C.



como também no ponto central, 175 bar e 35 °C, ao nível de 5 % de significância.

Tabela 9 - Rendimento global das extrações.

Experimentos	T (°C)	P (bar)	ρ_{CO_2} (g/cm ³) ⁽¹⁾	Solvente	Xo (%) ⁽²⁾
1	20	100	0,85653	CO ₂	1,62 ^{ab}
2	50	100	0,38535	CO ₂	0,00 ^b
3	20	250	0,96350	CO ₂	2,62 ^a
4	50	250	0,83497	CO ₂	2,58 ^{ab}
5	35	175	0,84394	CO ₂	2,35 ^{ab}
6	35	175	0,84394	CO ₂	2,49 ^{ab}
7	35	175	0,84394	CO ₂	2,57 ^{ab}

⁽¹⁾ANGUS; ARMSTRONG e DE REUCK, 1976;

⁽²⁾Letras iguais não diferem significativamente (p<0,05).

Não houve extrato para a extração supercrítica nas condições de 50 °C e 100 bar, com CO₂, devido a baixa massa específica do solvente, 0,38535 g/cm³, o que diminui o poder de solvatação do mesmo. No entanto, na temperatura subcrítica, 20 °C, e pressão supercrítica, 100 bar, com CO₂, foram extraídos 1,62 % de um óleo amarelo (Figura 12) confirmando a influência da massa específica, a qual aumentou para 0,85653 g/cm³.

Figura 12 - Extratos da semente do tamarindo doce.



De acordo com a ANOVA (Tabela 10), o efeito da temperatura, da pressão, como também da interação temperatura + pressão é significativo no rendimento global da ESC, ao nível de 5 % de significância. Em outras palavras, o efeito da pressão depende da temperatura e vice versa.

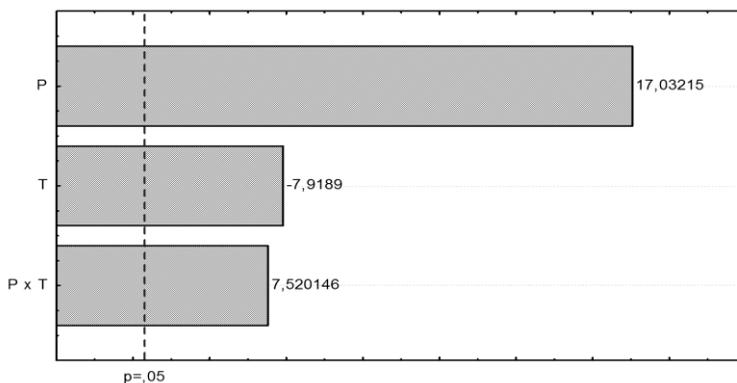
Tabela 10 - ANOVA para avaliação dos efeitos da temperatura (T) e pressão (P) sobre o rendimento da ESC da semente do tamarindo doce.

Efeito	SQ ⁽¹⁾	F ⁽²⁾	p ⁽³⁾
Pressão (bar)	3,203026	290,0941	0,003429
Temperatura (°C)	0,692390	62,7089	0,0155575
Interação P x T	0,624416	56,5526	0,017227
Erro	0,022083	-	-
SQ ⁽¹⁾ total	5,547170	-	-

SQ⁽¹⁾ = soma dos quadrados; F⁽²⁾ = estatística de teste; p⁽³⁾ = probabilidade.

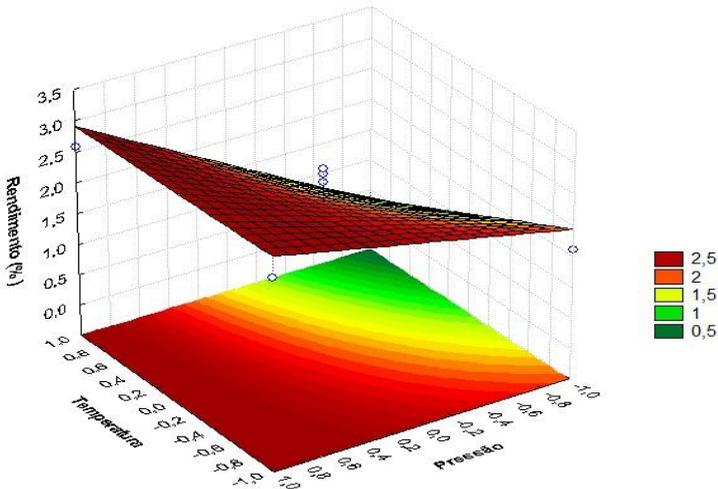
O Gráfico de Pareto (Figura 13) confirma os efeitos que os parâmetros citados e sua interação têm sobre o rendimento da extração.

Figura 13 - Gráfico de Pareto.



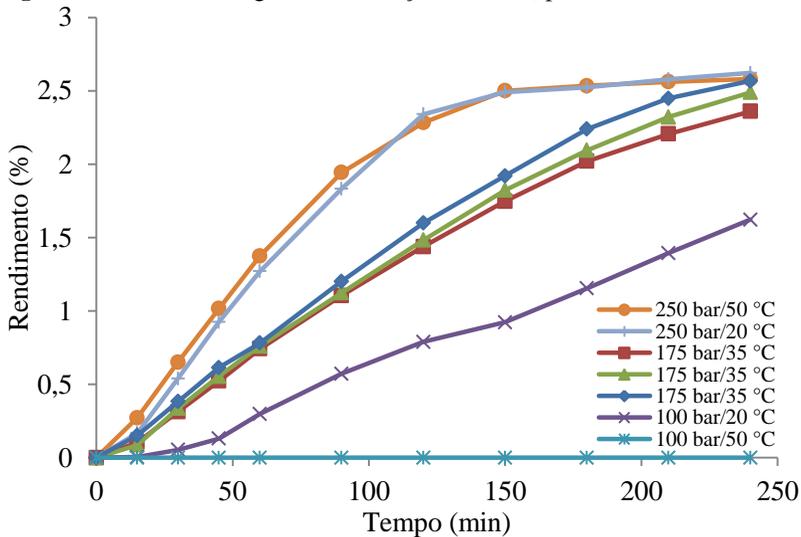
De acordo com a Superfície de Resposta (Figura 14) são considerados pontos ótimos do processo a pressão alta e as temperaturas subcrítica ou supercrítica.

Figura 14 - Superfície de Resposta da influência da temperatura e pressão no rendimento global da extração subcrítica e supercrítica da semente do tamarindo doce.



Observando a Figura 15 das extrações com dióxido de carbono, confirma-se o aumento do rendimento global com o aumento da massa específica e da pressão do solvente.

Figura 15 - Rendimento global da extração com CO_2 puro.



Observou-se pela Superfície de resposta que a otimização do processo do rendimento da extração com CO₂ supercrítico e subcrítico da semente do tamarindo doce encontra-se em regiões de altas pressões e diferentes temperaturas. Por isto, as extrações com CO₂ combinado com etanol foram realizadas a 250 bar e 50 °C.

4.4.1 Influência da temperatura no rendimento global

Segundo Carvalho-Junior et al. (2003), há dois principais efeitos da temperatura sobre a solubilidade e rendimento, a massa específica do solvente e a pressão de vapor do soluto. Percebe-se neste experimento que o aumento da massa específica influenciou positivamente no rendimento do extrato. Na pressão de 250 bar, onde as extrações ocorreram a 20 °C (subcrítico) e 50 °C (supercrítica), sendo, as massas específicas 0,9635 g/cm³ e 0,8349 g/cm³, respectivamente, o rendimento da extração aumentou com o aumento da massa específica. Este comportamento pode ser explicado pelo maior poder de solvatação do solvente, característica dos líquidos com altas massas específicas, segundo Tsao e Deng (2004).

A pressão de vapor do soluto aumenta com o aumento da temperatura. No entanto, neste experimento, a massa específica do solvente teve efeito dominante no processo de extração.

Este comportamento está de acordo com Geankoplis (1993), que diz que altas massas específicas do fluido aumentam o poder do solvente, o que geralmente é conseguido com a diminuição da temperatura do processo de extração.

Estes resultados concordam com Benelli et al. (2010), que encontrou resultados semelhantes utilizando CO₂ supercrítico para extração de antioxidantes e compostos bioativos do bagaço de laranja. Na condição de 100 bar, o rendimento diminuiu de $1,16 \pm 0,06$ % (m/m) para $0,84 \pm 0,06$ % (m/m) com a elevação da temperatura de 40 °C para 50 °C, devido a redução na massa específica do CO₂ supercrítico.

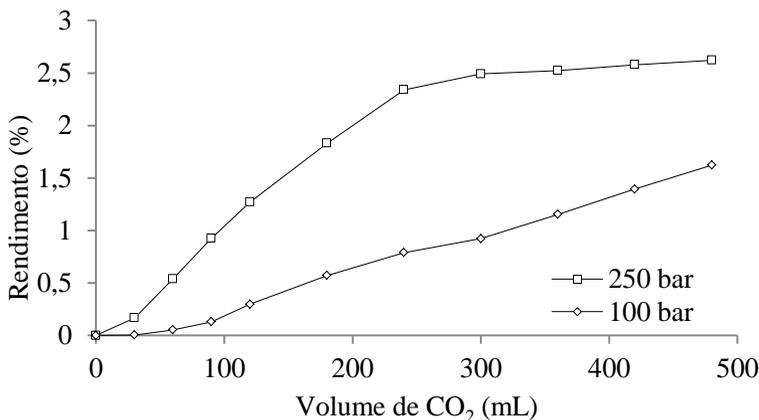
Andrade (2011) também relatou uma diminuição do rendimento obtido por extração supercrítica da casca de café, na condição de 100 bar, com o aumento da temperatura de 40 °C para 60 °C, de $1,24 \pm 0,02$ % para $0,55 \pm 0,02$ %.

4.4.2 Influência da pressão no rendimento global

Analisando a Tabela 9, os resultados demonstram um aumento do rendimento da extração com a elevação da pressão à temperatura constante. Na temperatura de 20°C, o rendimento aumenta de 1,62 % para 2,62 %, em torno de 60 % a mais, quando a pressão é elevada de 100 bar para 250 bar, conforme Figura 16. Isto pode ser explicado pelo aumento da massa específica do solvente com a pressão, ou seja, ocorre um aumento do poder de solvatação do CO₂ (solubilidade) com a massa específica (BRUNNER, 1994).

Campos et al. (2005) explicam que um aumento na pressão de operação pode provocar a ruptura de algumas células da matriz vegetal, expondo parte do soluto que antes não estava disponível e, conseqüentemente, aumentar a transferência de massa.

Figura 16 - Comportamento do X_o em condições isotérmicas (20°C).



Resultados semelhantes foram encontrados por Nimed (2009) em sementes de girassol, onde o rendimento aumentou de 31,7 % para 87,8 % quando a pressão aumentou de 190 bar para 250 bar, na temperatura de 60 °C. Este comportamento é comumente publicado em diversos trabalhos com extração supercrítica com dióxido de carbono puro (BENELLI et al., 2010; OLIVEIRA, 2010; ANDRADE, 2011).

4.4.3 Emprego do solvente etanol no processo de extração

O álcool etílico é um solvente considerado muito polar e tem sido utilizado como cosolvente em vários trabalhos de extração supercrítica

de antioxidantes, em concentrações pequenas. Segundo Benelli et al. (2010), os compostos fenólicos possuem maior afinidade por solventes de polaridade entre intermediária e alta (3,1 a 5,2). Por isto, neste trabalho, optou-se em realizar extrações combinando o dióxido de carbono com crescentes concentrações de etanol subcrítico, de 10 % a 100 % em fração molar, para avaliar o rendimento e quantidade de compostos polares extraídos da semente do tamarindo doce. O resultado dos rendimentos obtidos com CO₂ combinado com etanol estão na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultado da extração com CO₂ + etanol na condição de 250 bar e 50 °C.

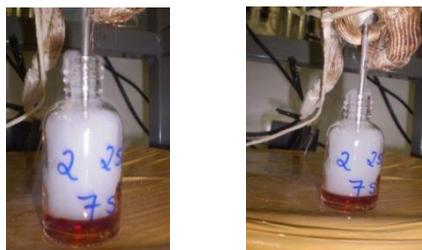
Experimentos	T (°C)	P (bar)	ρ CO ₂ (g/cm ³) ⁽¹⁾	Solvente	Xo (%) ⁽²⁾
8	50	250	0,83497	CO ₂ + 10 % etanol	3,47 ^c
9	50	250	0,83497	CO ₂ + 25 % etanol	3,44 ^c
10	50	250	0,83497	CO ₂ + 50 % etanol	7,62 ^b
11	50	250	0,83497	CO ₂ + 75 % etanol	20,27 ^a
12	50	250	0,83497	100 % etanol	21,44 ^a

⁽¹⁾ANGUS; ARMSTRONG e DE REUCK, 1976;

⁽²⁾Letras iguais não diferem significativamente (p<0,05).

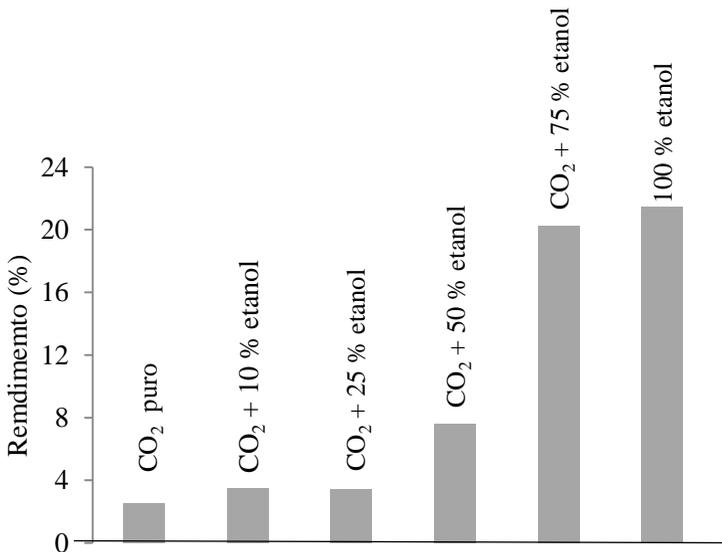
Os maiores rendimentos das extrações com etanol foram obtidos quando utilizou-se apenas etanol ou este combinado a CO₂, na proporção, respectivamente de 3:1, uma vez que não há diferença significativa ao nível de 5 % pelo Teste de Tukey. Com a utilização do etanol foram extraídos um óleo amarelo misturado a um líquido de cor marrom avermelhado (Figura 17).

Figura 17 - Extrato obtido a 250 bar/50 °C com CO₂+ 75 % etanol.



De acordo com a Figura 18, houve um aumento significativo nos rendimentos dos extratos de semente do tamarindo doce com o aumento da concentração de etanol subcrítico de aproximadamente 2,50 % para 21,44 %, (aproximadamente 860 % a mais). Isto pode ser explicado pelo aumento da solubilidade de compostos polares na mistura CO_2 + etanol na matriz sólida do tamarindo doce. No entanto, o aumento da solubilidade diminuiu a seletividade do processo e vice versa.

Figura 18 - Rendimento dos extratos obtidos em diversas concentrações de etanol, a 250 bar e 50 °C.



Percebe-se que não houve diferença significativa no rendimento da extração da mistura de CO_2 + etanol em concentrações de 10 % e 25 %. Isto pode ter ocorrido porque a fração molar do etanol aumentou e prejudicou a extração de compostos apolares, visto que o etanol é polar e extrai preferencialmente compostos polares (OLIVEIRA, 2010).

As características do solvente empregado podem predizer informações sobre a qualidade e a composição dos extratos (FERREIRA et al., 1999; REVERCHON; DE MARCO, 2006; POURMORTAZAVI; HAJIMIRSADEGHI, 2007). Como neste caso, a intenção é a extração de compostos antioxidantes, representados em sua maioria por

compostos fenólicos, o álcool etílico é um solvente adequado para extração destes componentes, atingindo um dos objetivos deste trabalho.

Comparando os maiores rendimentos obtidos na extração de CO₂ combinado com etanol ou 100 % etanol com a extração direta em Soxhlet, Tabela 12, não há diferença significativa ao nível de 5 % de acordo com o teste de Tukey.

Tabela 12 - Comparação dos rendimentos das extrações com CO₂ combinado com etanol e extração direta em Soxhlet.

Experimentos	T (°C)	P (bar)	ρ CO ₂ (g/cm ³) ⁽¹⁾	Solvente	Xo (%) ⁽²⁾
11	50	250	0,83497	CO ₂ + 75 % etanol	20,27 ^a
12	50	250	0,83497	100 % etanol	21,44 ^a
13	Soxhlet			etanol	20,69 ^a

⁽¹⁾ANGUS; ARMSTRONG e DE REUCK, 1976;

⁽²⁾Letras iguais não diferem significativamente (p<0,05).

Isto pode ser explicado pela polaridade do etanol, tornando-o capaz de extrair compostos semelhantes facilmente e pelo fato da condição escolhida não ser região supercrítica do etanol, não havendo influência na quantidade do extrato e, sim, na qualidade do mesmo com relação aos compostos antioxidantes perdidos durante a extração direta.

Palma e Taylor (1999a; 1999b) realizaram extração supercrítica de semente de uva em duas etapas usando CO₂ puro e modificado por metanol, obtendo uma fração oleosa na primeira fase e compostos fenólicos (catequina, epicatequina e ácido gálico) na segunda.

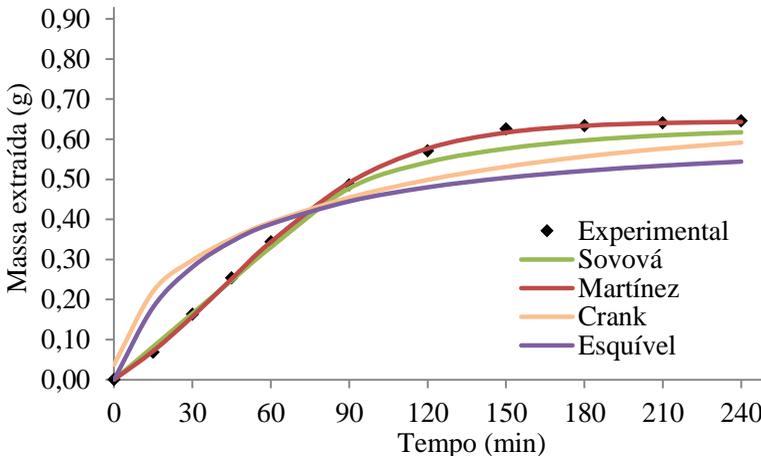
A massa específica do etanol, temperatura e pressão não foram variadas pois, o objetivo deste experimento foi avaliar a influência da concentração do álcool etílico no processo de extração, realizada durante 2,5 horas (150 minutos).

De acordo com Recasens et al. (1999), a solubilidade é dependente da temperatura, pressão, composição e natureza do solvente. Quanto maior for a solubilidade do soluto no solvente extrator, a quantidade de produto extraído será maior em um tempo menor.

4.4.4 Modelagem matemática

As curvas de extração apresentadas no item 4.3 podem ser utilizadas para realização da modelagem matemática. A curva de rendimento da extração supercrítica com dióxido de carbono puro, na condição de 250 bar e 50 °C, foi escolhida para representar a modelagem dos dados experimentais, visto que, também foi utilizada para a extração com etanol. Os modelos matemáticos empregados estão representados na Figura 19.

Figura 19 - Curva ESC da semente do tamarindo doce modelada a 250 bar/50 °C, com vazão de $3,85 \pm 0,5$ g/min.



Para aplicação destes modelos matemáticos é necessário o conhecimento de algumas variáveis do processo. No modelo de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008), as variáveis necessárias são: massa específica do solvente e solubilidade do extrato no solvente empregado, dados específicos da matéria-prima e do leito de partículas, como massa específica do sólido e porosidade do leito (Tabela 7) e, ainda, dados da curva de extração a ser modelada, como X_0 , t_{CER} , M_{CER} e Y_{CER} , além de outros, como a massa de inerte e a vazão do solvente.

No modelo logístico de Martínez et al. (2003) e no modelo de Crank (1975), apenas a massa de soluto inicial e o raio da partícula sólida são necessários, enquanto que no modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) necessita-se do valor de X_0 e da massa de inerte, ou

seja, a massa de matéria-prima isenta de óleo utilizada na extração (Tabela 13).

De acordo com a Figura 19 e os valores do MSE da Tabela 13, o modelo que melhor se adaptou aos dados experimentais foi de Martínez et al. (2003), seguido pelo de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008). O parâmetro t_m significa o tempo em que a taxa de extração é máxima. Neste caso, em aproximadamente 42,57 min, sendo a taxa de extração crescente para a semente do tamarindo doce (MARTÍNEZ et al., 2003).

Tabela 13 - Variáveis e parâmetros dos modelos matemáticos.

Modelo Matemático	Variáveis e Parâmetros do Processo
Martínez et al. (2003)	$m_{(\text{solute})} = 0,6450 \text{ g}$
	$b = 0,03091 \text{ min}^{-1}$
	$t_m = 42,5699 \text{ min}$
	MSE = 1,7245E-5
Esquível et al. (1999)	$m_{(\text{solute inicial})} = 0,02579 \text{ g}_{\text{óleo}}/\text{g}_{\text{sólido}}$
	$N = 24,3561 \text{ g}$
	$b = 37,1214$
	MSE = 0,0087
Crank (1975)	$m_{(\text{solute})} = 0,6450 \text{ g}$
	$r_{(\text{partícula})} = 0,0003976 \text{ m}$
	$D = 1,3308\text{E}-1 \text{ m}^2/\text{min}$
	MSE = 0,0075
Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008)	$N = 24,3561 \text{ g}$
	$Q = 3,8504 \text{ g}/\text{min}$
	$X_k = 0,0059$
	$K_{xa} = 0,00486$
	$K_{ya} = 0,03515$
	MSE = 0,0006

$m_{(\text{solute})}$: massa do soluto; b , t_m = parâmetro ajustável; MSE = erro médio quadrático; N : massa de inerte; $r_{(\text{partícula})}$: raio da partícula; D = coeficiente de difusão; Q : vazão; X_k = razão mássica de soluto de difícil acesso; K_{xa} : coeficiente de transferência de massa para a fase sólida; K_{ya} : coeficiente de transferência de massa para a fase fluida.

No modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King (1999), o único parâmetro (b) descreve os efeitos termodinâmicos e de transferência de massa, não sendo possível avaliar a influência dos diferentes

mecanismos de transferência de massa. A curva modelada tem a forma de hipérbole, não assemelhando-se aos dados experimentais, características de sistemas onde o soluto tem um fácil contato com o solvente e, assim, é extraído facilmente (SOUSA et al., 2005).

O modelo de Crank (1975) gerou um valor de erro médio quadrático baixo, 0,0075. No entanto, sua curva não se assemelha aos dados experimentais. Isto pode ser explicado pelos desvios em relação aos pontos experimentais, positivos na etapa CER e negativos na etapa FER, levando a uma falsa impressão de um bom ajuste do modelo. Isto também foi observado na curva de extração da casca do café arábica, por Andrade (2011).

O modelo de Sovová (1994) modificado por Martínez e Martínez (2008) apresenta bons ajustes à curva experimental nos períodos de taxa constante, descrevendo o fenômeno de transferência de massa que ocorre no processo de extração supercrítica, apresentando significado físico consistente aos parâmetros ajustáveis. Sua aplicação é limitada a sistemas onde a solubilidade é conhecida na pressão e temperatura empregadas na extração (SOUSA et al., 2005). No caso deste trabalho, a determinação da solubilidade preliminar descrita no item 3.3.1, foi adequada (GUPTA; SHIM, 2007).

O valor encontrado para o coeficiente de transferência de massa na fase fluida (K_y) foi maior (0,03515) do que o encontrado para o coeficiente de transferência de massa na fase sólida ($K_x = 0,00486$). Isto significa que o soluto localizado internamente nas partículas tem mais dificuldade de ser dissolvido, levando mais tempo para vencer a interface sólido-fluido que o soluto localizado na superfície das partículas, indicando que a transferência de massa por convecção na ESC da semente do tamarindo doce é mais intensa do que o mecanismo da difusão (MARTÍNEZ et al., 2003; WEINHOLD et al., 2008; BENELLI et al., 2010; ANDRADE, 2011).

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

4.5.1 – Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Total (TFT)

A quantidade de compostos fenólicos da semente do tamarindo doce foi avaliada pelo método Folin Ciocalteu, sendo representada pela quantidade de gramas equivalentes de ácido gálico pela quantidade de gramas da amostra. Os resultados foram obtidos dos extratos obtidos pelas técnicas de extração empregadas, de acordo com a Tabela 14.

A maior quantidade de compostos antioxidantes encontrada a 250 bar e 50°C com CO₂ puro, foi de 25,19 mg EAG/g extrato, sendo considerada igual estatisticamente à quantidade encontrada para a condição de 250 bar e 20 °C, de acordo com o teste de *Tukey* ao nível de 5 % de significância. Tanto a pressão como a temperatura influenciaram significativamente na extração destes compostos. Isto confirma a escolha da condição citada para as extrações com etanol.

Tabela 14 - Teor de compostos fenólicos total (TFT), expressos em equivalentes de ácido gálico para os extratos da semente do tamarindo doce.

Extratos	Teor de Compostos Fenólicos Total ⁽¹⁾ (mg EAG/g extrato)
ESC - 100 bar e 20 °C	6,13 ^{hi}
ESC - 100 bar e 50 °C	Não houve extrato
ESC - 250 bar e 20 °C	21,92 ^g
ESC - 250 bar e 50 °C	25,19 ^g
ESC - 175 bar e 35 °C	9,26 ^h
ESC - 175 bar e 35 °C	6,0 ^{hi}
ESC - 175 bar e 35 °C	4,76 ^j
250 bar/50 °C e 10 % etanol	25,6 ^g
250 bar/50 °C e 25 % etanol	307,36 ^e
250 bar/50 °C e 50 % etanol	361,42 ^d
250 bar/50 °C e 75 % etanol	420,8 ^b
250 bar/50 °C e 100 % etanol	471,05 ^a
Soxhlet	387,43 ^c
BHT*	268 ^f

⁽¹⁾ Letras iguais não diferem significativamente ($p < 0,05$).

*Valores determinados por BENELLI et al., (2010).

A extração realizada a 250 bar e 50 °C com diferentes concentrações de CO₂ e etanol também apresentou quantidades de compostos fenólicos muito diferentes. À medida que a quantidade de etanol aumentou, a quantidade de compostos fenólicos também aumentou significativamente.

Na presença dos dois solventes, a maior quantidade encontrada foi na condição de 75 % de etanol e 25 % de CO₂, 420,8 ± 2,5 mg EAG/g_{extrato}. Este comportamento pode ser explicado pela alta polaridade do etanol, que contribui para a extração de compostos fenólicos, visto que possuem características químicas semelhantes ao álcool, facilitando sua extração.

Apesar do rendimento da extração com 75 % de etanol + 25 % de CO₂ ser muito semelhante à extração em Soxhlet, a qualidade do extrato é diferente, sendo encontrados 420,8 mg EAG/g_{extrato} e 387,43 mg EAG/g_{extrato} respectivamente. Provavelmente, a porcentagem de CO₂ e as condições de temperatura e pressão favoreceram a extração, visto que o etanol está em pressão supercrítica e temperatura subcrítica, 60,6 bar e 241 °C (NIMED, 2009).

Além disto, a quantidade de solvente utilizada e o tempo de extração do método Soxhlet são maiores quando comparados ao método ESC. Os extratos obtidos pelo Soxhlet necessitam ser separados de uma quantidade significativa de solvente, aumentando ainda mais o tempo necessário para a extração de compostos pelo método convencional.

A maior quantidade de compostos fenólicos extraídos ocorreu a 250 bar e 50 °C com apenas o etanol, 471,05 ± 3,2 mg EAG/g_{extrato}, sendo, aproximadamente, 22 % a mais do que o extraído pelo método de Soxhlet, 387,43 ± 1,4 mg EAG/g_{extrato}. Isto significa que as condições de pressão e temperatura influenciaram de forma positiva na obtenção destes compostos, sendo necessário realizar um estudo sobre a viabilidade econômica dos investimentos necessários para a utilização destas condições, uma vez que, o funcionamento de uma planta industrial de alta pressão e temperatura ainda é muito cara quando comparada a extração convencional.

Luzia e Jorge (2010), encontraram 49,30 mg EAG/g_{extrato} de compostos fenólicos em solução etanólica da semente de *Tamarindus indica* L., enquanto que Simas et al. (2011) encontraram 183,28 µg EAG/mg de extrato em cascas do referido fruto.

Comparando a atividade antioxidante do hidroxitolueno de butila (BHT), um composto sintético de conhecida atividade antioxidante, identificado por Benelli et al. (2010), com a dos extratos da semente do tamarindo doce, conforme Tabela 14, observa-se uma quantidade de compostos fenólicos significativamente maior nos extratos obtidos com 25 %, 50 %, 75 % e 100 % de etanol, tanto na extração supercrítica como pelo método de Soxhlet, demonstrando o potencial da semente do tamarindo doce para futuros testes na indústria de alimentos como

antioxidante natural, levando em consideração, evidentemente, as características sensoriais do produto.

Percebe-se que o aumento da pressão, temperatura e massa específica, juntamente com a característica polar do etanol, contribuíram de forma significativa para a solubilidade de compostos fenólicos presentes na semente do tamarindo doce.

4.5.2 Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A atividade antioxidante dos extratos da semente do tamarindo doce foi avaliada também pelo reagente DPPH. Segundo Mensor et al. (2001), o uso deste reagente promove um caminho fácil e rápido para avaliar antioxidantes como possíveis sequestradores de radicais livres.

A Tabela 15 apresenta os valores da atividade antioxidante referente à maior concentração testada (500 µg/mL), em AA % e EC₅₀.

Tabela 15 - Atividade antioxidante e EC₅₀ pelo método DPPH.

Extratos	% AA (500µg/mL)	EC ₅₀ (µg/mL)
ESC - 100 bar e 20 °C	31,45 ^f	159,45 ^{cd}
ESC - 100 bar e 50 °C	Não houve extrato	Não houve extrato
ESC - 250 bar e 20 °C	28,21 ^g	307,63 ^{ab}
ESC - 250 bar e 50 °C	31,15 ^f	97,72 ^{de}
ESC - 175 bar e 35 °C	53,91 ^c	100,55 ^{de}
ESC - 175 bar e 35 °C	45,24 ^d	190,47 ^{bcd}
ESC - 175 bar e 35 °C	41,90 ^e	213,14 ^{bcd}
250 bar/50 °C e 10 %	25,13 ^h	370,82 ^a
250 bar/50 °C e 25 %	97,18 ^a	12,34 ^e
250 bar/50 °C e 50 %	97,77 ^a	8,92 ^e
250 bar/50 °C e 75 %	97,61 ^a	---
250 bar/50 °C e 100 %	96,70 ^a	---
Soxhlet	97,00 ^a	---
BHT*	89,70 ^b	261,00 ^{abc}

*Valores determinados por BENELLI et al., (2010).

Segundo Jesus (2010), o valor de EC₅₀ representa a concentração efetiva para que se atinja 50 % de atividade antioxidante. Portanto, quanto menor o valor de EC₅₀, menor a concentração necessária para

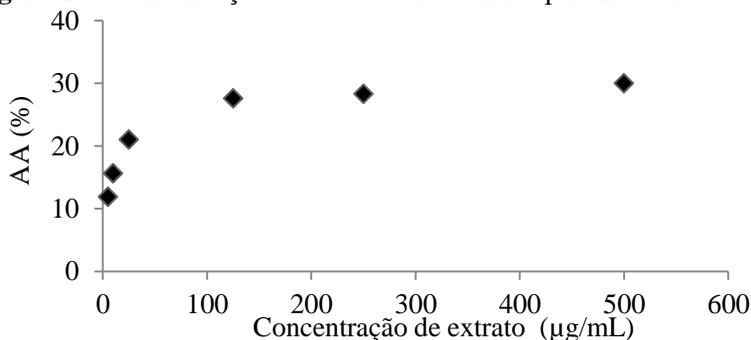
que se tenha 50 % de atividade antioxidante (AA) de acordo com o método do DPPH, e maior a atividade antioxidante do sistema em estudo. Em outras palavras, baixos valores para EC_{50} estão associados à elevada AA e vice-versa. O BHT foi utilizado como referência para comparação dos resultados.

De acordo com os resultados, as amostras que apresentaram as maiores atividades antioxidantes foram as extraídas com etanol com concentração de 25 %, 50 %, 75 % e 100 %, a 250 bar e 50 °C e pelo método direto de Soxhlet, visto que não há diferença significativa ao nível de 5 %, pelo teste de Tukey. Isto pode ser atribuído à polaridade do etanol que solubilizou compostos tão polares quanto, entre eles, os compostos fenólicos. Sendo esta atividade antioxidante maior do que a do antioxidante sintético BHT ($89,7 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$), torna o extrato da semente do tamarindo doce um potencial antioxidante para ser testado em alimentos.

Quanto maior a atividade antioxidante menor o EC_{50} e devido à alta atividade antioxidante das amostras extraídas com 75 % e 100 % de etanol, como também o Soxhlet, não foi possível calcular o EC_{50} . Dentre as amostras extraídas com CO_2 supercrítico puro, a melhor atividade antioxidante foi encontrada na amostra com condição de 250 bar e 50 °C. Ainda assim, três vezes menor quando comparada aos extratos com álcool.

O valor de EC_{50} foi calculado na faixa de concentração de 5 a 50 $\mu\text{g/mL}$, a qual pertence à concentração de 50 % de atividade antioxidante (AA), por regressão linear, que a curva de concentração de extrato ($\mu\text{g/mL}$) versus AA (%) assemelha-se a uma linha reta nessa faixa, como pode ser visto na Figura 20 para a condição de 250 bar e 50 °C.

Figura 20 - Concentração de extrato versus AA % para 250 bar e 50 °C.



Em temperatura subcrítica, 20 °C, a atividade antioxidante foi muito semelhante a encontrada na mesma pressão, 250 bar, em temperatura supercrítica. No entanto, o EC₅₀ da temperatura subcrítica foi muito maior do que o encontrado para temperatura de 50 °C, isto indica que o aumento da temperatura não degradou compostos responsáveis pela atividade antioxidante, tornando a condição de 250 bar e 50 °C muito promissora para extração destes compostos (HU; HU; XU, 2005).

Foram encontrados 75,93 % de AA (500µg/mL), em extrato etanólico da semente de tamarindo, variedade ácida, e 204,72 de EC₅₀ (µg/mL) (LUZIA; JORGE, 2011). Estes resultados estão entre os valores encontrados por este trabalho, visto que, há uma diferença na variedade dos tamarindos utilizados e nas condições de extração adotadas.

4.5.3 Perfil de ácidos graxos encontrados nos extratos da semente de tamarindo doce

O perfil dos ácidos graxos dos extratos da semente do tamarindo doce foi obtida por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM), conforme descrito no item 3.5.2. Os compostos químicos foram identificados baseando-se na comparação do espectro de massa da substância com um sistema de banco de dados para CG-EM. Os critérios adotados para a escolha dos compostos majoritários foram o percentual de área e os tempos de retenção.

A Tabela 16 apresenta os compostos majoritários encontrados, sendo identificados trinta e cinco compostos químicos nos extratos da semente do tamarindo doce. Observa-se uma semelhança nos compostos identificados nos extratos da ESC, sendo formados por cadeias carbônicas com, no mínimo, cinco carbonos, saturados, insaturados e/ou ligados às funções: ácido carboxílico e álcool.

Os principais ácidos graxos encontrados nos extratos da ESC foram o ácido 9,12-octadecadienóico (ácido linoléico), ácido *cis*-10-heptadecenóico e ácido *n*-hexadecanóico (ácido palmítico). Curiosamente, o ácido *cis* 9-octadecenóico, ácido oléico, foi apenas identificado nas extrações em temperatura subcrítica (20 °C) e Soxhlet. Outros compostos importantes também foram identificados nas amostras, como etil benzeno, *o*-xileno, decano, ácido octadecanóico (esteárico) e tetratriacontano.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Luzia e Jorge (2011), em semente de tamarindo ácido, que relatam o ácido

linoléico como principal componente, além do ácido palmítico, esteárico, oléico, compostos saturados, mono saturados e poli-insaturados, atribuindo aos compostos citados à ação de favorecer a remoção do colesterol ruim (LDL), promovida pelo tamarindo.

A crescente concentração de etanol favoreceu a extração de alguns compostos polares, álcool e ácidos carboxílicos, que não foram extraídos com o CO₂, como trifluoracetato do álcool olefílico, ácido *cis* vacênico, ácido 3-metil decanóico, 9,12-octadecdien-1-ol, 17-cloro heptadecino, etil 9-hexadecenoato e ácido 1,2 benzenodicarboxílico. No entanto, baseando-se na percentagem da área relativa, não influenciou de forma significativa na extração de compostos majoritários, como o ácido linoléico, conforme Tabela 16.

Tabela 16 - Compostos químicos identificados na semente do tamarindo doce por cromatografia gasosa por espectrometria de massa (CG-EM).

Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Extrações com CO ₂ puro					Extrações com CO ₂ e etanol					
		100 bar e 20°C ¹ (%)	175 bar e 35°C ¹ (%)	175 bar e 35°C ¹ (%)	250 bar e 20°C ¹ (%)	250 bar e 50°C ¹ (%)	10 % etanol ¹ (%)	25 % etanol ¹ (%)	50 % etanol ¹ (%)	75 % etanol ¹ (%)	100 % etanol (%)	Soxhlet etanol (%)
Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	2,89	3,45	3,99	5,83	4,29	2,77	5,86	7,78	3,68		
Etil benzeno	6,596	3,98	4,67	5,32	7,69	5,52	3,78	7,69	10,29	4,49		
o-Xileno	6,890	3,42	4,02	4,57	6,57	4,56	3,00	6,56	8,92	3,83		
3-metil 1-butanol	7,139	2,34	2,78	3,32	4,78	3,45	2,21	4,76	6,41	2,98		
Dodecano	8,082	1,64	1,88	2,15	3,06	2,21		3,17	4,43	2,01		
1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	1,53	1,70	2,00	2,82	2,08	1,37	2,83	3,86			
Decano	13,057	3,14	3,45	4,09	5,84	4,18	2,81	5,87	8,04	3,66		
Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	0,80	1,10		1,63	1,14	0,76	1,60	2,46			
1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	0,65	1,52	1,40	1,79	1,42	0,82	1,96	2,80			
Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	9,73	8,88	9,05	7,12	8,93	10,22	6,77	3,14	8,25		
Ácido 14-metil pentadecanóico	31,789										26,85	
Ácido hexadecanóico												23,21
Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	28,60	24,07	23,30	17,47	23,88	28,57	14,88	5,72	23,24	38,27	34,50

Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Extrações com CO ₂ puro					Extrações com CO ₂ e etanol					Soxhlet etanol (%)
		100 bar e 20°C ¹ (%)	175 bar e 35°C ¹ (%)	175 bar e 35°C ¹ (%)	250 bar e 20°C ¹ (%)	250 bar e 50°C ¹ (%)	10% etanol ¹ (%)	25% etanol ¹ (%)	50% etanol ¹ (%)	75% etanol ¹ (%)	100 % etanol (%)	
Ácido cis 9 – octadecênico (oléico)	34,895	0,96			13,06							24,31
Ácido cis vacênico	34,949						11,24		17,52			
Ácido cis-10-heptadecênico	34,983	22,26	19,41	18,41		18,31	22,43					
Trans ácido 13 - octadecênico	35,105										25,87	
Ácido 16-metil heptadecanóico	35,616										9,00	9,33
Ácido octadecanóico (esteárico)	35,724	2,86	3,12	3,27		2,76						
17-Cloro 7-heptadecino	35,819								2,18			
Etil 9-hexadecenoato	35,957			0,92			1,05	1,21	1,21			
Oleato de etila	35,994									2,94		
Ácido 3-metil butil pentadecanóico	38,382											8,66
10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,48	1,60	1,57	1,37	1,23	1,26			1,15		
Tetatriacontano	47,925	2,49	2,09	2,35	2,17	2,27	2,63	2,00		1,84		

¹Percentagem da área relativa

Os compostos majoritários encontrados nos extratos com CO₂ + etanol não apresentaram tanta semelhança. Para a condição com 10 % de etanol, os compostos predominantes foram ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico) e ácido n-hexadecanóico (palmítico). Na condição de 25 % e 75 % de etanol, ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico) e ácido *cis* vacênico. Em 50 % de etanol, etilbenzeno e decano. No entanto, para todos os extratos o ácido linoléico está presente em percentagem de área significativa.

A quantidade de compostos extraídos em cada extrato variou de dezesseis, na condição de CO₂ + 75 % de etanol, até vinte e três, nas condições de 175 bar e 35 °C com CO₂ puro e CO₂ + 25 % de etanol.

Nos extratos oriundos da extração com 100 % etanol através dos métodos supercrítico e Soxhlet foi encontrado como composto majoritário o ácido linoleico.

A extração de uma grande quantidade de ácidos graxos pode ser justificada pelas características químicas destas moléculas, uma parte polar e outra apolar, que em caso de moléculas grandes podem expressar atratividade diferentes, pelo CO₂ ou etanol, por exemplo. Isto explica a semelhança de compostos extraídos com CO₂ puro ou combinado com etanol.

A área relativa ao ácido linoléico (ômega 6) é semelhante para todas as extrações ESC com CO₂ puro e com 10 % e 100 % de álcool etílico. É o composto predominante nos extratos da semente do tamarindo doce, segundo a porcentagem da área relativa. É formado por 18 carbonos com duas duplas ligações, poli-insaturado, tendo afinidade por solventes apolares. As variações da pressão e da temperatura não influenciaram de forma significativa no rendimento das extrações com relação ao ácido linoléico.

O ômega 6, como também é conhecido, é considerado ácido graxo essencial, visto que, não pode ser produzido pelo organismo, sendo necessário sua ingestão através da dieta (TURATTI, 2000). Tem importância na preservação e desenvolvimento do sistema nervoso, capaz de reduzir os níveis do colesterol LDL e do colesterol total (FAGUNDES, 2002).

O ácido palmítico também foi encontrado em todos os extratos da semente do tamarindo doce, sendo mais expressivo nas ESC com CO₂ puro e com 10 % de etanol. É formado por uma cadeia apolar de 16 carbonos com ligações simples, o que confere maior polaridade a sua molécula quando comparado com outros ácidos graxos, principalmente os insaturados. Esta afirmação justifica a maior extração deste quando é utilizado o 10 % de etanol. No entanto, com o aumento da concentração

de etanol, sua extração diminui, indicando sua afinidade por solventes de polaridade intermediária (BENELLI et al., 2010).

O ácido oléico foi detectado apenas nas extrações subcrítica com CO₂ puro (100 bar/20 °C e 100 bar/50 °C) e Soxhlet, sendo o segundo composto mais expressivo na condição de 250 bar e 20 °C, também chamado de ômega 3. O oleato de etila, formado pela condensação do ácido oléico e etanol, foi encontrado no extrato com CO₂ + 75 % de etanol.

O ácido esteárico tem se mostrado um substrato pobre para a síntese de triglicerídeos, quando comparado com outros ácidos graxos saturados, como o palmítico, por exemplo. Estudos com humanos têm mostrado que ingestão atual de ácido esteárico tem efeito neutro nos lipídeos plasmáticos e nas lipoproteínas plasmáticas (triglicerídeos, colesterol total, colesterol LDL ou HDL) (YU; DERR e KRIS-ETHERTON, 1995; KRIS-ETHERTON et al., 2005). Uma das teorias para explicar este efeito neutro, alega sua menor absorção intestinal e sua conversão endógena em ácido oléico (LOUHERANTA et al, 1998).

O ácido cis-10-heptadecenoico foi detectado nos extratos da ESC (com exceção para a condição de 250 bar e 20 °C) e na condição de CO₂ + 10 % etanol. Possui 17 átomos de carbono com uma dupla ligação, classificado como monoinsaturado. Estudos atualizados mostram que, quando se substitui os ácidos graxos saturados por monoinsaturados, os níveis de LDL diminuem enquanto o HDL permanece inalterado (NOVELLO; FRANCESCHINI e QUINTILIANO, 2008).

O ácido vacênico é um composto intermediário da biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados, a exemplo do linoléico (BAUMAN; BAUMGARD E CORL, 1999). Sendo substrato para formação do ácido esteárico (FERNANDES, 2004). Encontrado nos extratos da semente do tamarindo doce obtidos com CO₂ e 25 % e 75 % de etanol.

Os ácidos graxos saturados mais abundantes são o palmítico e esteárico, enquanto os insaturados que mais ocorrem na natureza são o linoléico, oléico e linolênico (ARAÚJO, 1999). Os ácidos palmítico, oléico e linoléico também são encontrados nos óleos de amêndoa, gergelim, girassol e oliva (MEZZOMO, 2008).

Terpenos também foram encontrados em alguns extratos, como o 10,1-biciclo trideceno. Algumas destas substâncias apresentam atividades farmacológicas (DUKE, 1985; BRUNETON, 1993; VALLILO; BUSTILLOS e AGUIAR, 2006).

A conhecida ação laxante do tamarindo é proveniente da combinação de substâncias ácidas, como ácido 2-etil hexiloxálico, encontrado nos extratos obtidos da semente do tamarindo doce, com exceção para a condição com CO₂ + 75 % e 100 % de etanol.

A composição química da semente do tamarindo doce enriquece e agrega valor a este resíduo tão abundante da região do Semiárido Nordestino, sendo necessário, um estudo sobre a viabilidade econômico da extração destes compostos.

5. CONCLUSÃO

A umidade presente na semente do tamarindo doce não contribuiu para o rendimento em massa da extração com CO₂ puro, sendo desidratadas até 5,0 %, o que representa uma diminuição de 50 % da sua água livre inicial. A amostra seca obteve 12 % a mais de extrato em comparação com a úmida, resultando num rendimento de 2,77 % de óleo.

O maior rendimento em massa obtido para a ESC da semente do tamarindo doce com CO₂ puro foi de 2,62 % para a condição de 250 bar e 20 °C, estatisticamente igual ao rendimento obtido na mesma pressão a 50°C de 2,58 %. A influência da temperatura foi observada através da massa específico do solvente que teve efeito dominante neste experimento, sendo que, quanto maior a massa específica maior o rendimento do extrato.

O aumento da pressão também influenciou positivamente no rendimento do extrato, obtendo um aumento de 60 % a mais quando a pressão é elevada de 100 bar para 250 bar, na temperatura de 20 °C, resultando em 2,62 % de extrato da semente do tamarindo doce.

A utilização do etanol no processo de extração influenciou significativamente no rendimento em massa e na qualidade antioxidante dos extratos, sendo os rendimentos em massa das extrações com 10 % e 25 % de etanol muito semelhantes, 3,47 % e 3,44 %, respectivamente. No entanto, a qualidade antioxidante destes extratos apresentaram-se bastante diferentes, de acordo com os resultados do TFT como também pelo DPPH.

O extrato obtido com 100 % de etanol pressurizado (250 bar/50 °C) apresentou o melhor rendimento e atividade antioxidante, respectivamente, 21,44 % e 471,05 mg EAG/g_(extrato). Não houve diferença significativa em relação ao rendimento dos extratos obtidos com Soxhlet e com 75 % de etanol + 25 % de CO₂. No entanto, percebe-se uma qualidade na atividade antioxidante em condição de alta pressão, sendo o teor de compostos fenólicos dos extratos obtido a 250 bar, com 75 % e 100 % de etanol, superiores aos extratos em Soxhlet e ao antioxidante artificial, butil hidroxitolueno.

Existem diversos trabalhos que utilizam uma pequena quantidade de etanol para extração de antioxidantes, não obtendo resultados tão promissores quando comparado à extração em Soxhlet. Por isto, neste trabalho, optou-se em utilizar uma concentração crescente de etanol em pressão supercrítica e temperatura subcrítica e observou-se que, a partir de 75 % de etanol + 25 % de CO₂, tem-se o mesmo rendimento da extração em Soxhlet, mas, com qualidade antioxidante muito superior, confirmada pelo TFT.

Os rendimentos e teor de fenólicos totais dos extratos obtidos em alta pressão com CO₂ puro foram inferiores quando comparados aos extratos etanólicos pressurizado e em baixa pressão (Soxhlet). As condições de pressão e temperatura influenciaram significativamente nos rendimentos e quantidade de fenólicos das amostras, sendo, a condição de 250 bar e 50 °C o ponto de otimização do processo.

Os extratos etanólicos obtidos em alta pressão, a partir de 25 % de etanol, apresentaram atividade antioxidante, pelo método DPPH, igual ao extrato obtido em Soxhlet e superior ao butil hidroxitolueno, antioxidante artificial, demonstrando o potencial antioxidante natural da semente de tamarindo doce.

Os resultados encontrados para o EC₅₀ é semelhante a % AA, sendo encontrados 8,9 µg/mL para o extrato etanólico com 50 % de etanol + 50 % CO₂, não sendo possível determinar o valor de EC₅₀ para os extratos obtidos com 75 % e 100 % de etanol devido à alta atividade antioxidante. Estes resultados são muito promissores para a semente do tamarindo doce quando comparados com o EC₅₀ do hidroxitolueno de butila, sendo necessário uma avaliação econômica e sensorial do uso destes compostos antioxidantes naturais em produtos alimentícios, levando em consideração também a maior qualidade que será agregada ao mesmo.

O estudo da cinética de extração da semente do tamarindo doce indicou que o principal mecanismo de transferência de massa é a convecção, sendo o processo limitado pela difusão. O modelo matemático que melhor se adaptou aos dados experimentais da semente do tamarindo doce foi o de Martínez et al. (2003), com MSE de 1,7245 × 10⁻⁵. Portanto, o mais indicado para estudos de ampliação de escala de processo.

Os principais ácidos graxos encontrados nos extratos da ESC foram o ácido 9,12-octadecadienóico (ácido linoléico), ácido cis-10-heptadecenóico e ácido n-hexadecanóico (ácido palmítico). Curiosamente, o ácido cis 9-octadecenóico (oleico) foi apenas identificado nas extrações em temperatura subcrítica (20 °C). Outros

compostos importantes também foram identificados com polaridades semelhantes aos solventes utilizados. É necessário outras avaliações para a quantificação de compostos com atividade antioxidante.

Portanto, os extratos etanólicos da semente do tamarindo doce, obtidos pela tecnologia supercrítica com mistura de solventes, são potenciais fontes de antioxidantes naturais para a indústria de alimentos.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliação do rendimento e atividade antioxidante de extratos obtidos pela tecnologia supercrítica utilizando concentrações diferentes de etanol e água;
- Estudo da influência de parâmetros de processo como quantidade de massa, tamanho do diâmetro médio e vazão do solvente;
- Determinação da solubilidade experimental da semente do tamarindo doce;
- Determinação dos compostos antioxidantes presentes nos extratos da semente do tamarindo doce;
- Avaliação da atividade antioxidante dos extratos da película da semente do tamarindo doce;
- Análise da eficiência da atividade antioxidante dos extratos da semente do tamarindo doce em alimentos e sua aceitação sensorial;
- Viabilidade econômica da extração supercrítica da semente do tamarindo doce.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, K. S. **Avaliação das técnicas de extração e do potencial antioxidante dos extratos obtidos a partir de casca e de borra de café (*Coffea arábica* L.)**. Florianópolis: UFSC, 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2011.

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

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.

ANGUS, S.; ARMSTRONG, B.; DE REUCK, K. M. **International thermodynamic tables of the fluid state: Carbon dioxide**. Oxford: Pergamon Press, 1976.

ARAÚJO, J. M. de A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 2. ed. Viosa: UFV, 1999.

BAUMAN, D.E.; BAUMGARD, Lance H.; CORL, B.A. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. In: **AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE**. Proceedings... Ithaca: Cornell University. p.1 – 15. 1999.

BENELLI, P.; RIEHL, C. A. S.; JÚNIOR, A. S.; 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. **J. of Supercritical Fluids**. v. 22, pag. 132 – 141, 2010

BERNARDO-GIL, M, G.; RIBEIRO, M, A.; ESQUÍVEL, M. M. Produção de extratos para a indústria alimentar: uso de fluidos supercríticos. **Boletim de Biotecnologia**, v. 73, p.14-21, 2002.

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

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Editora MS, p. 1017, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Portaria nº. 540, de 27 de outubro de 1997**. Diário Oficial da União, 28 de outubro de 1997.

BRUM, L. F. W. **Obtenção e Avaliação de Extratos de Folhas de Eucalipto (*Eucalyptus Dives*) Como Potenciais Antioxidantes em Alimentos**. Florianópolis: UFSC, 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

BRUNETON, J. **Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales**. 2. ed. Paris: Tec DOC, 1993. 914p.

BRUNNER, G. **Gas Extraction: An introduction to fundamentals of supercritical fluids and the applications to separation process**. Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, Springer, 1994.

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.

CARVALHO-JUNIOR, R. S.; MOURA, L. S.; QUISPE-CONDORI, S.; ROSA, P. T. V.; MING, L. C.; MEIRELES, M. A. A. Determination of the global yield isotherms for the system rosemary (*Rosmarinus officinalis*) + CO₂. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SUPERCRITICAL FLUIDS, 6th, 2003, Versailles. **Proceedings of the 6th International Symposium on Supercritical Fluids**. Versailles:ISASF, 2003. 129-137 p.

CARVALHO, R. V. dos S.; SILVA, J. S. da; SOUZA, H. N. S.; GUIMARÃES, M. G. C.; SANTOS, V. R. M. dos; AZEVÊDO, L. C.;

Caracterização de Uma Nova Variedade de Tamarindo (*Tamarindus indica*) Cultivada Na Bahia. **IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste da Educação Tecnológica**. Belém-PA, 2009.

CONDE, E.; CADAHÍA, E.; GARCIA-VALLEJO, M. C.; SIMÓN, B. F. Polyphenolic composition of *Quercus suber* cork from different spanish provenances. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 8, p.3166-3171, 1998.

COOPERCUR - COOPERATIVA AGROPECUÁRIA FAMILIAR DE CANUDOS. **Coopercur é destaque do APL de Fruticultura da Bahia**. Disponível em: <http://www.artigopt.com/alimentos-e-bebidas/coopercuc-e-destaque-do-apl-de-fruticultura-da-bahia.html>. Acesso em: 20 de set. de 2011.

CORREIA, J.; MICHIELIN, E. M. Z.; FERREIRA, S. R. S. **Estudo de modelos de transferência de massa para processos de extração supercrítica**. Florianópolis: UFSC, 2006. Relatório (Iniciação Científica PIBIC- CNPQ), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2006.

CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. Oxford: Claredon Press, 1975. 85p.

DANIELSKI, L. **Solubilidade das oleoresinas de calêndula (*Calendula officinalis* L.) e cavalinha (*Esquisetum arvense*) em CO₂ supercrítico**. Florianópolis, 2002. 142 p. (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

DÍAZ-REINOSO, B.; MOURE, A.; DOMÍNGUES, H.; PARAJÓ, J. C. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. **J. Agric. Food Chem.**, v. 54, p. 2441-69, 2006.

DUKE, J. A. **Handbook of medicinal herbs**. Boca Raton: CRC Press, 1985. 936 p.

ESQUÍVEL, M. M.; BERNARDO-GIL, M. G.; KING, M. B. Mathematical models for supercritical extraction of olive husk oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v.16, p. 43-58, 1999.

FERNANDES, S. A. A. **Levantamento exploratório da produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite de búfalas em cinco fazendas do estado de São Paulo**. Dissertação (Doutor em Agronomia). Escola Superior de Agricultura. Piracicaba. 2004.

FAGUNDES, L. A. **Ômega-3 % ômega-6: o equilíbrio dos ácidos gordurosos essenciais na prevenção de doenças**. Porto Alegre: Fundação de Radioterapia do Rio Grande do Sul, 2002. 111p.

FAROOQ, S.A.; FAROOQ, T. T. Rapid Clonal Propagation of *Tamarindus indica* (L) Using Explants from Adult Trees. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. Pakistan, v.6, n.18, p.1591-1592, 2003.

FERREIRA, S. R. S. **Extração com dióxido de carbono líquido subcrítico de óleo essencial de pimenta-do reino**. Campinas: UNICAMP, 1991. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1991.

FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Food Engineering**, v. 54, p. 263-9, 2002.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, p. 235-45, 1999.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de Procedimentos de Extração do Óleo de Semente de Uva e Caracterização Química dos Compostos Extraídos**. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre/RS, 2007.

GÁMEZ-MEZA, N. et al. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 76, n. 12, p.1445-1447, 1999.

GEANKOPLIS, C.J. **Transport processes and unit operations**, Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1993.

GENEMA, A. K. **Extração e Caracterização do Extrato de Alecrim (*Rosmarinus Officinalis* L.): Estudo de sua Ação Antioxidante.**

Florianópolis: UFSC, 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

GÓMEZ, A. M.; OSSA, E. M. Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide. **Chemical Engineering Journal**, v. 88, p. 103-109, 2002.

GUPTA, R. B.; SHIM, J. **Solubility in supercritical carbon dioxide.** CRC Press. 2007.

GURJÃO, K. C. de O.; **Desenvolvimento, Armazenamento E Secagem De Tamarindo (*Tamarindus indica* L.).** Areia, 2006. Tese de Doutorado em Agronomia - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 2006.

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.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal 2008.** Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1479&idpagina=1. Acesso: 28 de set.de 2011.

IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Comparativo das Exportações Brasileiras de Frutas Processadas 2010/2009.**

Disponível em:

http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Export_Processadas/Comparativo_das_Exporta%C3%A7%C3%B5es_Brasileiras_de_Frutas_Processadas_2010-2009.pdf. Acesso em 28 de set. de 2011.

JACQUES, R. S. **Caracterização química da erva mate (*Ilex paraguariensis*): aplicação de diferentes processos de extração e influência das condições de plantio sobre a composição química.**

Porto Alegre: UFRGS, 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

JESUS, S. P. de. **Recuperação de γ -orizanol a partir de resíduo da indústria de óleo de arroz utilizando extração supercrítica: avaliação de parâmetros de processo e caracterização dos extratos.** Florianópolis: UFSC, 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

JOCHMANN, A. **Extração Supercrítica de oleoresina de calêndula (*Calendula officinalis*).** Florianópolis, 2000. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Química) Deptº de Pós-Graduação em Engenharia Química, UFSC.

JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 193-202, 2005.

KITZBERGER, C. S. G.; LOMONACO, R. H.; MICHIELIN, E. M. Z.; DANIELSKI, L.; CORREIA, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of shiitake oil: Curve modeling and extract composition. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 35-43, 2009.

KRIS-ETHERTON, P. M.; GRIEL, A. E.; PSOTA T. L.; GEBAUER, S. K.; ZHANG, J.; ETHERTON T. D. Dietary stearic acid and risk of cardiovascular disease: intake, sources, digestion, and absorption. *Lipids*. 2005;40:1193-200.

LOUHERANTA, A. M.; TURPEINEN A. K.; SCHWAB, U. S.; VIDGREN, H. M.; PARVIAINEN M. T.; UUSITUPA, M. I. A. High-stearic acid diet does not impair glucose tolerance and insulin sensitivity in healthy women. **Metabolism**. 1998;18:599-603.

LUENGTHANAPHOL, S; MONGKHOLKHAJORN SILP, D.; DOUGLAS, S.; DOUGLAS, P. L.; PENG SOPA, L.; PONGAMPHAI, S. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat- preliminary experiments. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 63, n. 3, p. 247-253, 2004.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Antioxidant activity, fatty acid profile and tocopherols of *Tamarindus indica* L. seeds. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 31(2): 497-501, abr.-jun. 2011

MARTÍNEZ, J.; MONTEIRO, A. R.; ROSA, P. T. V.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Multicomponent model to describe extraction of ginger oleoresin with supercritical carbon dioxide. **Industrial Engineering of Chemistry Research**, v. 42, p. 1057-63, 2003.

MARTÍNEZ, J. **Extração de óleos voláteis e outros compostos com CO₂ supercrítico: desenvolvimento de uma metodologia de aumento de escala a partir da modelagem matemática do processo e avaliação dos extratos obtidos**. Campinas: UNICAMP, 2005. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, J. M. Fitting the sovová's supercritical fluid extraction model by means of a global optimization tool. **Computers and Chemical Engineering**, v. 32, pag. 1735 – 1745, 2008.

MAUL, A. A. Fluidos Supercríticos, situação atual e futuro da extração supercrítica. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2(11), p.42-6, 1999.

MELO, E. de A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 44, n. 2, 2008.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother. Res.**, v. 15, p. 127-30, 2001.

MEZZOMO, N. **Óleo de amêndoa de pêsego: avaliação da técnica de extração, da qualidade dos extratos e parâmetros para ampliação de escala**. Florianópolis: UFSC, 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

MEZZOMO, N. MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Kinetics, mathematical modeling and scale-up. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 1, p. 10-16, 2009.

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.

MICHIELIN, E. M. Z.; BRESCIANI, L. F. V.; DANIELSKI, L.; YUNES, R. A.; FERREIRA, S. R. S. Composition profile of horsetail (*Equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. **J. of Supercritical Fluids**, v. 33, p. 131-8, 2005.

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire**, v.39, v.25, p.31-46, 2003.

NIMED, G. **Avaliação dos solventes dióxido de carbono supercrítico e propano subcrítico na extração do óleo de girassol.** Toledo: UNIOESTE, 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2009.

NOVELLO, D.; FRANCESCHINI, P.; QUINTILIANO, D. A.; A importância dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. **Revista Salus-Guarapuava-PR**. Jan./Jun. 2008; 2(1): 77-87

OLIVEIRA, D. A. de. **Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis Vinifera*) das variedades Merlot e Syrah.** Florianópolis: UFSC, 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

PALMA, M.; TAYLOR, L. T. Fractional extraction of compounds from grape seeds by supercritical fluid extraction and analysis for *Referências* 184 antimicrobial and agrochemical activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 5044-5048, 1999a.

PALMA, M.; TAYLOR, L. T. Extraction of polyphenolic compounds from grape seeds with near critical carbon dioxide. **Journal of Chromatography A**, v. 949, p. 117-124, 1999b.

PEREIRA, P. C.; MELO, B.; FRANZÃO, A. A.; ALVES, P. R. B.; A cultura do tamarindeiro (*Tamarindus indica* L.). **I Semana do Curso de Engenharia Ambiental**. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Umarama – MG, 2011.

PEREIRA, T. A.; RETTORI, D. Comparação da capacidade antioxidante de diferentes marcas de chás verdes. In: **JORNADA DE INICIACAO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA UNIBAN**, 2008, Sao Paulo. Anais...São Paulo: UNIBAN, 2008. p. 1-3.

PERES, M. T. L. P.; LOPES, J. R. R.; SILVA, C. B. da; CÂNDIDO, A. C. S.; HESS, S. C.; SIMIONATTO, E.; CARDOSO, C. A. L.; SIMAS, P. H. Teor de Fenóis e Atividade Antioxidante de Frutos do Cerrado. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. 34^a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Florianópolis, 2011.

PESCHEL, W.; SÁNCHEZ-RABANEDA, F.; DIEKMANN, W.; PLESCHER, A.; GARTZÍA, I.; JIMÉNEZ, D.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; BUXADERAS, S.; CODINA, C. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, p. 137-50, 2006.

POURMORTAZAVI, S. M.; HAJIMIRSADEGUI, S. H. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. **Journal Chromatography A**, v.1163, p. 2-24, 2007.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; **Quim. Nova**, 2001,24, 68.

RECASENS, F.; ABAROUDI, K.; TRABELSI, F.; CALLOUD-GABRIEL, B. Mass transport enhancement in modified supercritical fluid. **Industrial Engineering Chemistry Research**. vol. 38, pg. 3505-3518, 1999.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Foto Antioxidantes. **Química Nova**, Vol. 29 n°. 4 São Paulo. July/Aug. 2006

RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry: an overview. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n. 5, p. 269-284, 2002.

REVERCHON, E. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. **J. of Supercritical Fluids**, v.10(1), p.1-37, 1997.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **J. of Supercritical Fluids**. v. 38, p. 146 – 66, 2006.

REVERCHON, E.; MARRONE, C. Modeling and simulation of the supercritical CO₂ extraction of vegetable oils. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 19, p. 161-175, 2001.

ROCHA, Wagner Xavier. Extração com solvente. **Química 2000**.

Disponível em:

http://govtandeducationchat.reocities.com/Vienna/choir/9201/extracao_com_solvente.htm. Acesso em 16 de set. de 2011.

RURALBR. Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo.

Disponível em: <http://agricultura.ruralbr.com.br/noticia/2009/06/brasil-e-o-terceiro-maior-produtor-de-frutas-do-mundo-2535814.html>. Acesso em: 20 de set. de 2011.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. CRC-Crit. **Rev. Food Sci. Nutr.**, Philadelphia, v.32, n.1, p.67-103, 1992.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. p. 281-319.

SHANKARCHARYA, N.B. Tamarind – chemistry, technology and uses – a critical appraisal. **Journal of Food Science Technology**, v.35, n.193–208, 1998.

SIDDHURAJU, J. **LWT** **2007**, *40*, 982

SILVA, D. C. M. N. **Determinação experimental de parâmetros de processo na extração supercrítica de óleo essencial de carqueja (*Baccharis trimera* Less)**. Florianópolis: UFSC, 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

SIMAS, P. H.; SIMIONATTO, E.; CABRAL, M. R.; FACCO, J. T.; ANDREIO, R. P.; SILVA, C. B. da; PERES, M. T. L. P. **Investigação sobre teor de fenóis e atividade antioxidante de frutos de MS**. Disp. em: <http://periodicos.uems.br/novo/index.php/enic/article/view/652/582>. Acesso: 03 de nov. de 2012.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enol. Vitic.** v. 16, p. 144-58, 1965.

SOUSA, Danielle Marie Macedo; **Estudos morfo-fisiológicos e conservação de frutos e sementes de *Tamarindus indica* L.** Areia, 2008. Dissertação em Agronomia - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba – UFPB, 2008.

SOUSA, E. M. B. D.; MARTÍNEZ, J.; CHIAVONE-FILHO, O.; ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of volatile oil from *Croton zehntneri* Pax et Hoff with pressurized CO₂: solubility, composition and kinetics. **Journal of Food Engineering**, v. 69 (3), p. 325-33, 2005.

SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂: I. Modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**. v.49(3), p. 409-14, 1994.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO. **Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA**, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 2006.

TRZECIAK, M. B.; NEVES, M. B. das; VINHOLES, P. S.; VILLELA, F. A.; Tratamentos para superação de dormência em sementes de *Tamarindus indica* L. **XVI Congresso de Iniciação Científica**. Pelotas, CD 01976, 2007.

- TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal Chromatography B**, v. 812, p. 85-99, 2004.
- TSUDA, T.; WATANABLE, M.; OHSHIMA, K.; YAMAMOTO, A.; KAWAKISHI, S.; OSAWA, T. Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v.42, p. 2671-2674, 1994.
- TURATTI, J. M. Óleos vegetais como fonte de alimentos funcionais. **Óleos & Grãos**. n°. 56, p. 20-27, 2000.
- VALLILO, M. I.; BUSTILLOS, O. V; AGUIAR, O. T. de; Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de campomanesia adamantium (cambessédes) o. berg – myrtaceae. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v. 18, n. único, p. 15-22, dez. 2006.
- WEINHOLD, T. S.; BRESCIANI, L. F. V.; TRIDAPALLI, C. W.; YUNES, R. A., HENSE, H., FERREIRA, S. R. S. Polygala cyparissias oleoresin: comparing CO₂ and classical organic solvent extractions. **Chemical Engineering and Processing**, v. 47, p.109-17, 2008.
- YU, S.; DERR J.; T. D.; KRIS-ETHERTON P. M.; Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. **Am J Clin Nutr.** 1995;61:1129-39.

APÊNDICES

APÊNDICE A: MODELOS MATEMÁTICOS;

APÊNDICE B: DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO;

APÊNDICE C: CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO;

APÊNDICE D: CROMATOGRAMAS E COMPOSTOS IDENTIFICADOS DOS EXTRATOS DA SEMENTE DE TAMARINDO DOCE.

APÊNDICE A: MODELOS MATEMÁTICOS

A1. MODELO DE MARTÍNEZ et al. (2003)

O modelo de Martínez et al. (2003) é uma proposta para sistemas multicomponentes e pode ser aplicado considerando o extrato como um pseudocomponente ou uma mistura de substâncias ou grupos de componentes com estrutura química similar. O modelo negligencia o acúmulo e a dispersão na fase fluida devido a este fenômeno não apresentar influência significativa no processo quando comparado com o efeito de convecção (ANDRADE, 2011).

Para um único grupo de componentes, a curva de extração obtida pelo modelo de Martínez et al. (2003) pode ser representada pela Equação A1.

$$m_{ext} = \frac{m_0}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1 + \exp(b_i t_{mi})}{1 + \exp([b_i(t_{mi} - t)])} - 1 \right\} \quad A1$$

onde:

t = tempo (s);

m_{ext} = massa de extrato (kg);

m₀ = massa de soluto inicial (kg);

b_i e t_{mi} são parâmetros ajustáveis do modelo (min⁻¹ e min, respectivamente).

A.2 Modelo de Esquível, Bernardo-Gil e King. (1999)

Esquível, Bernardo-Gil e King (1999) realizaram simulações das curvas de extração de cascas de azeitonas e se basearam na equação da cinética do crescimento de microrganismos de Monod para descrever as curvas globais de extração (OLIVEIRA, 2010).

A curva de extração é representada pela equação empírica A2:

$$m_{ext(t)} = X_0 M \left(\frac{t}{b+t} \right) \quad A2$$

Onde:

$m_{ext(t)}$ = massa de extrato em função do tempo (kg);

t = tempo de extração em minutos;

M = massa de matéria prima (kg);

X_o = razão mássica de extrato na matéria prima (kg/kg);

b = parâmetro ajustável (min).

A3. MODELO DIFUSIONAL DE CRANK (1975)

O modelo de Crank (1975), apresentado por Reverchon (1997), considera a transferência de massa como uma analogia à transferência de calor. Assim, supõe que as substâncias a serem extraídas estão uniformemente distribuídas em partículas sólidas esféricas, que liberam o soluto no solvente supercrítico com o tempo, como um corpo quente perde calor para o meio. Este modelo é chamado difusional, pois considera que a transferência de massa se dá unicamente devido à difusão do soluto, contido no interior das partículas sólidas, para a fase supercrítica (REVERCHON, 1997; CAMPOS, 2005; MEZZOMO, 2008; MICHIELIN, 2009; BENELLI et al., 2010; OLIVEIRA, 2010).

Baseado na segunda Lei de Fick para difusão, e resolvendo analiticamente o balanço de massa na parte interna da partícula, a Equação A1 representa a massa de uma substância que se difunde através de uma partícula (MEZZOMO, 2008; MICHIELIN, 2009; BENELLI et al., 2010; OLIVEIRA, 2010).

$$m_{ext} = m_0 \left[1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(\frac{-Dtn^2\pi^2}{r^2}\right) \right]$$

A3

onde:

m_{ext} = massa de extrato (kg);

m_0 = massa inicial de soluto (kg);

t = tempo (min);

D = coeficiente de difusão, um parâmetro ajustável do modelo (m^2/min)

r = raio da partícula sólida (m);

n = número inteiro.

A4. MODELO DE SOVOVÁ (1994) MODIFICADO POR MARTÍNEZ E MARTÍNEZ (2008)

O modelo proposto por Sovová (1994) baseia-se em balanços de massa que consideram o escoamento axial do solvente com velocidade superficial através de um leito fixo de seção transversal cilíndrica. Considera-se que na entrada do extrator o solvente está livre de soluto e a temperatura e a pressão são mantidas constantes. O tamanho das partículas e a distribuição do soluto no interior do sólido são considerados homogêneos e o soluto encontra-se nas células do sólido, protegido pela parede celular. Como resultado da moagem, as células localizadas na superfície das partículas são rompidas, tornando parte do soluto exposto ao solvente (MEZZOMO, 2008; BENELLI et. al., 2010; OLIVEIRA, 2010; ANDRADE, 2011).

Neste modelo a transferência de massa interfacial ocorre de formas diferentes, dependendo da disponibilidade do soluto de fácil acesso ao solvente. Esta diferença se reflete no termo $J(X, Y)$ do balanço de massa, que representa o fluxo de transferência de massa interfacial (ANDRADE, 2011).

O modelo de Sovová (1994) emprega o coeficiente de transferência de massa na fase fluida para descrever o período de taxa de extração constante (CER), e o coeficiente de transferência de massa na fase sólida para descrever a etapa na qual a resistência à transferência de massa é controlada pela difusão (BENELLI et al., 2010; ANDRADE, 2011). Neste modelo, o perfil de concentração do soluto na fase fluida é dividido em três etapas:

a) a primeira etapa considera que o soluto de fácil acesso (X_p) disponível na superfície das partículas sólidas vai se esgotando ao longo do leito, chamada etapa CER, onde t_{CER} é o final da etapa de taxa de extração constante;

b) na segunda etapa o soluto de fácil acesso se esgota ao longo do leito, e inicia-se a extração do soluto de difícil acesso, chamada de etapa FER, na qual t_{FER} é o final da etapa de taxa de extração decrescente;

c) nesta etapa são retirados os solutos de difícil acesso (X_k) presentes no interior das partículas sólidas – denominada etapa difusional – sendo controlada pela resistência interna à transferência de massa.

A curva de extração obtida pelo modelo de Sovová (1994) é representada pelas Equações A4, A5 e A6, com a massa total de extrato obtida na saída do extrator, em função do tempo:

Para $t \leq t_{cer}$:

$$m_{ext} = Q_{CO_2} Y^* [1 - \exp(-Z)]t \quad A4$$

Para $t_{cer} < t \leq t_{fer}$:

$$m_{ext} = Q_{CO_2} Y^* [t - t_{cer} \exp(Zw(t) - Z)] \quad A5$$

Para $t > t_{fer}$:

$$m_{ext} = M_{SI} \left[X_o - \frac{Y^*}{W} \ln \left\{ 1 + \left[\exp\left(\frac{WX_o}{Y^*}\right) - 1 \right] \exp\left[\frac{WQ_{CO_2}}{M_{SI}}(t_{cer} - t)\right] \right\} \left(\frac{Xk}{X_o}\right) \right] \quad A6$$

Onde:

$$Z_W = \frac{ZY^*}{WX_o} \ln \left\{ \frac{X_o \exp\left[\frac{WQ_{CO_2}}{M_{SI}}(t - t_{cer})\right] - Xk}{X_o - Xk} \right\} \quad A7$$

$$Z = \frac{M_{SI}K_{ya}\rho}{Q_{CO_2}(1 - \varepsilon)\rho_s} \quad A8$$

$$W = \frac{M_{SI}K_{xa}}{Q_{CO_2}(1 - \varepsilon)} \quad A9$$

$$t_{cer} = \frac{M_{SI}X_p}{Q_{CO_2}ZY^*} \quad A10$$

$$t_{FER} = t_{CER} + \frac{MSI}{Q_{CO_2}W} \ln \frac{X_k + X_p \exp\left(\frac{WX_0}{Y^*}\right)}{X_0} \quad A11$$

t = tempo (s);

MSI = massa de sólido inerte (kg);

X₀ = razão mássica de extrato na matéria-prima (kg/kg);

X_k = razão mássica de soluto de difícil acesso (kg/kg);

X_p = razão mássica de soluto de fácil acesso (kg/kg);

Y* = solubilidade do soluto no solvente (kg/kg);

QCO₂ = vazão de solvente (CO₂) (kg/h);

ρ = massa específica do solvente (kg/m³);

ρ_s = massa específica da partícula sólida (kg/m³);

ε = porosidade do leito.

Nas equações do modelo de Sovová (1994) pode-se dizer que a quantidade Z, apresentada na Equação A6, é um parâmetro para a etapa CER porque essa quantidade (Z) é diretamente proporcional ao coeficiente de transferência de massa na fase fluida (k_{ya}) e este coeficiente controla a taxa de extração no período CER (ANDRADE, 2011).

Para a resolução do modelo de Sovová (1994), é necessário conhecer alguns parâmetros: MCER, taxa de extração na etapa CER (kg/min); Y_{CER}, razão mássica do soluto na fase supercrítica na saída da coluna na etapa CER (kgextrato/kgCO₂); t_{CER}, duração da etapa CER (min) (CAMPOS, 2005; ANDRADE, 2011).

O parâmetro MCER é o valor da tangente ao período CER e, a partir dele, obtêm-se o valor de Y_{CER} através da Equação A10.

$$Y_{CER} = \frac{M_{CER}}{Q_{CO_2}} \quad A12$$

Os parâmetros k_{xa} e k_{ya} são, respectivamente, os coeficientes de transferência de massa na fase sólida e na fase fluida (min⁻¹), e são definidos pelas Equações A11 a A15:

$$K_{ya} = \frac{M_{CER}}{\rho_{CO_2}SH\Delta Y} \quad A13$$

$$K_{xa} = \frac{K_{ya} \rho_{CO_2} \Delta Y}{\rho_s \Delta X} \quad A14$$

$$\Delta X = \left(\frac{x_p + x_k}{2} \right) \quad A15$$

$$x_p = x_o + x_k \quad A16$$

$$\Delta Y = \frac{Y_{CER}}{\ln\left(\frac{Y^*}{Y^* - Y_{CER}}\right)} \quad A17$$

onde:

ΔY : média logarítmica para a razão mássica de soluto na fase fluida (kg/kg);

ΔX : média aritmética para a razão mássica de soluto na fase sólida (kg/kg).

APÊNDICE B: DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS DE EXTRAÇÃO

Tabela 17 - Dados experimentais das extrações dos testes preliminares.

Volume CO ₂ (mL)	Condições 175 bar/35 °C (amostra úmida)		Condições 175 bar/35 °C (amostra seca)	
	massa (g)	Xo (%)	massa (g)	Xo (%)
0	0	0	0	0
30	0,0269	0,1072	0,0379	0,1516
60	0,0830	0,3308	0,0956	0,3823
90	0,1379	0,5496	0,1535	0,6139
120	0,1884	0,7508	0,2053	0,8211
180	0,2918	1,1629	0,3104	1,2414
240	0,3893	1,5515	0,4097	1,6385
300	0,4688	1,8683	0,5002	2,0004
360	0,5331	2,1246	0,5796	2,3180
420	0,5794	2,3091	0,6422	2,5683
480	0,6206	2,4733	0,6919	2,7671

Tabela 18 - Dados da curva cinética de extração.

Condição 250 bar/50 °C vazão: $1,2 \pm 0,2$ g/min tempo: 400 min.

VOLUME CO ₂ (mL)	massa extraída (g)	Xo (%)
0	0,0000	0,0000
17	0,0588	0,0588
33	0,1194	0,1782
50	0,1856	0,3638
66	0,2508	0,6146
83	0,3089	0,9235
99	0,3611	1,2846
116	0,4097	1,6943
132	0,4579	2,1522
165	0,5340	2,6862
198	0,5855	3,2717
231	0,6158	3,8875
264	0,6347	4,5222
297	0,6514	5,1736
330	0,6604	5,8340
363	0,6662	6,5002
440	0,6715	7,1717

Tabela 19 - Dados das curvas de extração com CO₂ puro.

Condição 175 bar/35 °C		Condição 250 bar/50 °C		Condição 250 bar/20 °C	
massa (g)	Xo (%)	massa (g)	Xo (%)	massa (g)	Xo (%)
0	0	0,0000	0,0000	0	0
0,0379	0,1516	0,0680	0,2720	0,0420	0,1678
0,0956	0,3823	0,1628	0,6512	0,1349	0,5391
0,1535	0,6139	0,2539	1,0156	0,2315	0,9251
0,1953	0,7811	0,3436	1,3743	0,3179	1,2703
0,3004	1,2014	0,4858	1,9431	0,4585	1,8322
0,3997	1,5985	0,5708	2,2831	0,5856	2,3401
0,4802	1,9205	0,6250	2,4999	0,6235	2,4915
0,5597	2,2384	0,6335	2,5339	0,6315	2,5235
0,6122	2,4484	0,6403	2,5611	0,6453	2,5786
0,6419	2,5671	0,6450	2,5799	0,6561	2,6218

Condição 175 bar/35 °C		Condição 100 bar/20 °C		Condição 175 bar/35 °C	
massa (g)	Xo (%)	massa (g)	Xo (%)	massa (g)	Xo (%)
0	0	0	0,0000	0,0000	0,0000
0,0261	0,1044	0,0011	0,0044	0,0216	0,0864
0,0783	0,3131	0,0133	0,0532	0,0842	0,3367
0,1308	0,5230	0,0325	0,1299	0,1386	0,5543
0,1856	0,7421	0,0745	0,2978	0,1901	0,7602
0,2762	1,1044	0,1430	0,5717	0,2810	1,1238
0,3596	1,4379	0,1974	0,7892	0,3707	1,4825
0,4368	1,7465	0,2309	0,9231	0,4556	1,8220
0,5051	2,0196	0,2887	1,1542	0,5237	2,0944
0,5516	2,2056	0,3487	1,3940	0,5805	2,3215
0,5900	2,3591	0,4058	1,6223	0,6224	2,4891

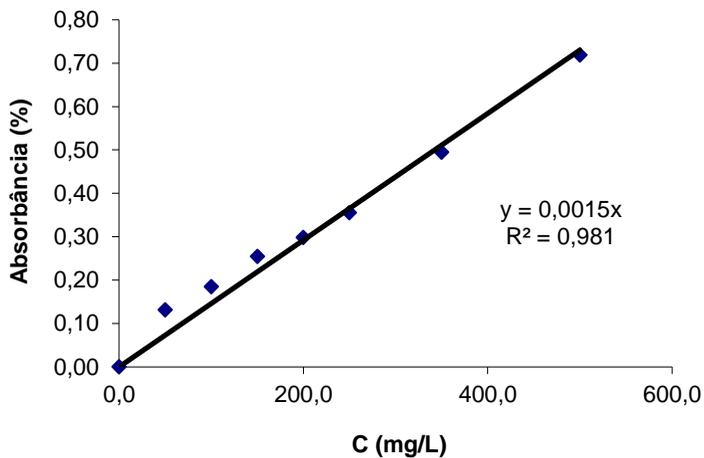
Tabela 20 - Dados das curvas de extração com CO₂ + etanol.

CO ₂ + 10% etanol		CO ₂ + 25% etanol		CO ₂ + 50% etanol	
massa (g)	Xo (%)	massa (g)	Xo (%)	massa (g)	Xo (%)
0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0
0,2069	0,8276	0,4890	1,9558	1,3550	5,42
0,3727	1,4907	0,6377	2,5506	1,4378	5,75
0,5535	2,2139	0,6956	2,7822	1,5185	6,07
0,7268	2,9071	0,7554	3,0214	1,6031	6,41
0,8276	3,3103	0,7987	3,1945	1,7415	6,97
0,8542	3,4167	0,8327	3,3305	1,8476	7,39
0,8690	3,4759	0,8595	3,4377	1,9055	7,62

CO ₂ + 75% etanol		100% etanol	
massa (g)	Xo (%)	Massa (g)	Xo (%)
0,0000	0,0000	0	0,0000
1,4096	5,6383	2,7034	10,8117
1,8960	7,5838	3,9051	15,6177
2,8878	11,5509	4,5395	18,1549
3,4362	13,7445	4,8092	19,2335
3,9063	15,6248	5,0951	20,3769
4,9640	19,8555	5,3591	21,4327
5,0675	20,2695	5,3603	21,4375

APÊNDICE C: CURVA PADRÃO DE ÁCIDO GÁLICO

Figura 21 - Curva padrão de ácido gálico utilizada para determinação do teor de fenólicos totais (TFT), 765 nm.



APÊNDICE D: CROMATOGRAMAS E COMPOSTOS IDENTIFICADOS DOS EXTRATOS DA SEMENTE DE TAMARINDO DOCE

C1. CG/MS ESC 100 bar e 20 °C

Figura 22 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 100 bar e 20 °C.

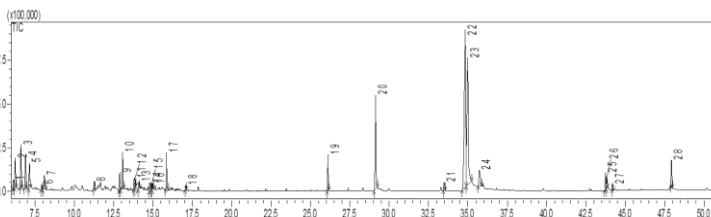


Tabela 21 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 100 bar e 20 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanoico	6,236	2,89
3	Etil benzeno	6,596	3,98
4	o-Xileno	6,890	3,42
5	3-metil 1-butanol	7,139	2,34
7	Dodecano	8,082	1,64
10	Decano	13,057	3,14
11	Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	0,80
12	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	0,65
20	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	9,73
22	Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	28,60
	Ácido cis 9-octadecenóico (oléico)	34,895	0,96
23	Ácido cis-10-heptadecenóico	34,983	22,26

24	Ácido octadecanóico (esteárico)	35,724	2,86
25	10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,48
28	Tetatriacontano	47,925	2,49

C2. CG/MS ESC 175 bar e 35 °C

Figura 23 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 175 bar e 35 °C.

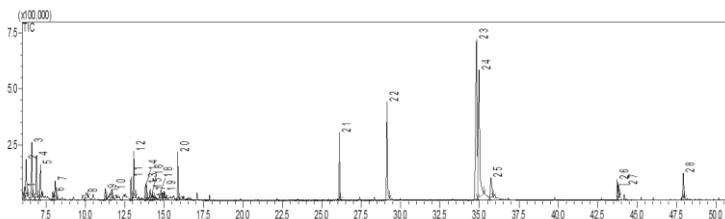


Tabela 22 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 175 bar e 35 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	3,45
3	Etil benzeno	6,596	4,67
4	o-Xileno	6,890	4,02
5	3-metil 1-butanol	7,139	2,78
7	Dodecano	8,082	1,88
11	1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	1,70
12	Decano	13,057	3,45
13	Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	1,10
14	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	1,52
22	Ácido n- hexadecanóico (palmítico)	29,133	8,88
23	Ácido 9,12- octadecadienóico (linoléico)	34,824	24,07

24	Ácido cis-10-heptadecenóico	34,983	19,41
25	Ácido octadecanóico (esteárico)	35,724	3,12
26	10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,60
28	Tetratriacontano	47,925	2,09

C3. CG/MS ESC 175 bar e 35 °C

Figura 24 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 175 bar e 35 °C.

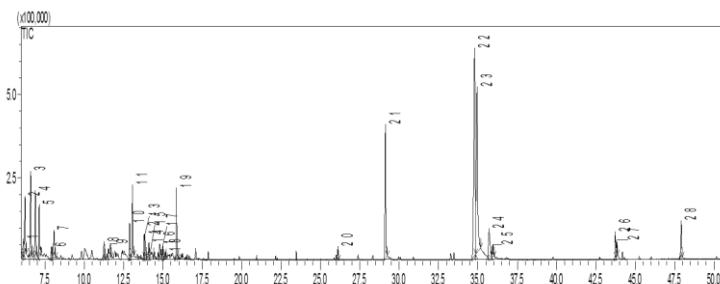


Tabela 23 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 175 bar e 35 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	3,99
3	Etil benzeno	6,596	5,32
4	o-Xileno	6,890	4,57
5	3-metil 1-butanol	7,139	3,32
7	Dodecano	8,082	2,15
10	1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	2,00
11	Decano	13,057	4,09
12	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	1,12
21	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	9,05
22	Ácido 9,12-	34,824	23,30

octadecadienóico (linoléico)			
23	Ácido cis-10- heptadecenóico	34,983	18,41
24	Ácido octadecanóico (esteárico)	35,724	3,27
26	10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,57
28	Tetratriacontano	47,925	2,35

C4. CG/MS ESC 250 bar e 20 °C

Figura 25 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 250 bar e 20 °C.

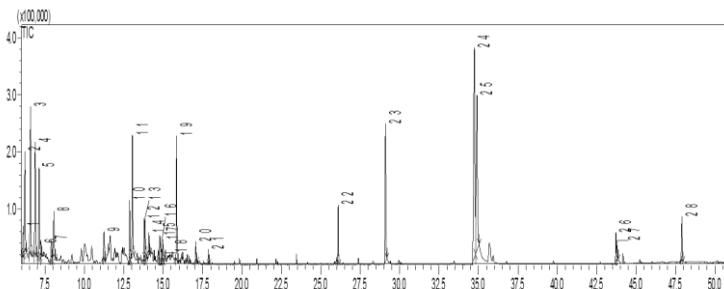


Tabela 24 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 250 bar e 20 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	5,83
3	Etil benzeno	6,596	7,69
4	o-Xileno	6,890	6,57
5	3-metil 1-butanol	7,139	4,78
8	Dodecano	8,051	3,06
10	1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	2,82

11	Decano	13,057	5,84
12	Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	1,63
13	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	1,79
23	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	7,12
24	Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	17,47
25	Ácido cis 9-octadecenóico (oléico)	34,895	13,06
26	10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,37
28	Tetratriacontano	47,925	2,17

C5. CG/MS ESC 250 bar e 50 °C

Figura 26 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido a 250 bar e 50 °C.

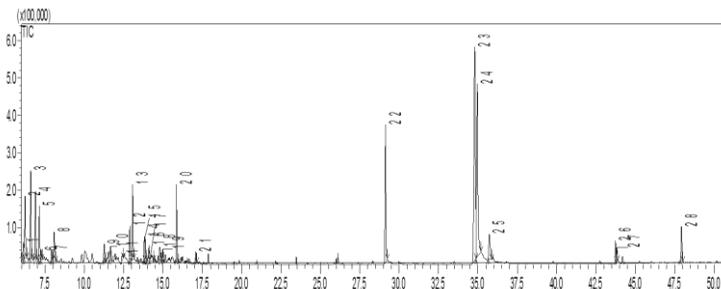


Tabela 25 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce a 250 bar e 50 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	4,29
3	Etil benzeno	6,596	5,52

4	o-Xileno	6,890	4,56
5	3-metil 1-butanol	7,139	3,45
8	Dodecano	8,082	2,21
11	1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	2,08
12	Decano	13,057	4,18
14	Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	1,14
15	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	1,42
22	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	8,93
23	Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	23,88
24	Ácido cis-10-heptadecenóico	34,983	18,31
25	Ácido octadecanóico (esteárico)	35,724	2,76
26	10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,23
28	Tetratriacontano	47,925	2,27

C6. CG/MS ESC COM CO₂ + 10 % ETANOL, 250 bar e 50 °C

Figura 27 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 10% etanol, a 250 bar e 50 °C

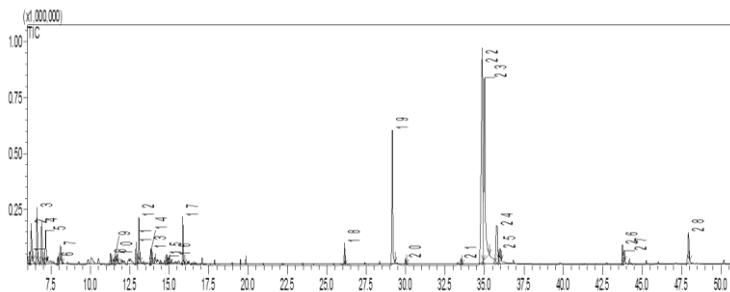


Tabela 26 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 10 % etanol, a 250 bar e 50 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	2,77
3	Etil benzeno	6,596	3,78
4	o-Xileno	6,890	3,00
5	3-metil 1-butanol	7,139	2,21
11	1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	1,37
12	Decano	13,057	2,81
13	Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	0,76
14	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	0,82
19	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	10,22
22	Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	28,57
23	Ácido cis-10-heptadecenóico	34,983	22,43
26	10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,26
28	Tetratriacontano	47,925	2,63

C7. CG/MS ESC COM CO₂ + 25 % ETANOL, 250 bar e 50 °C

Figura 28 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 25 % etanol, a 250 bar e 50 °C.

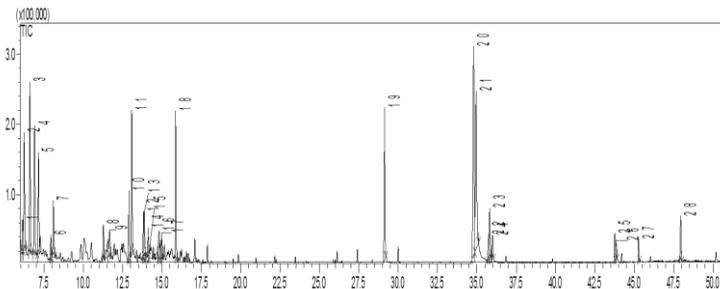


Tabela 27 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 25 % etanol, a 250 bar e 50 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	5,86
3	Etil benzeno	6,596	7,69
4	o-Xileno	6,890	6,56
5	3-metil 1-butanol	7,139	4,76
7	Dodecano	8,082	3,17
10	1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	2,83
11	Decano	13,057	5,87
12	Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	1,60
13	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	1,96
19	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	6,77
20	Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	14,88
21	Ácido cis vacênico	34,949	11,24
28	Tetratriacontano	47,925	2,00

C8. CG/MS ESC COM CO₂ + 50 % ETANOL, 250 bar e 50 °C

Figura 29 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 50 % etanol, a 250 bar e 50 °C.

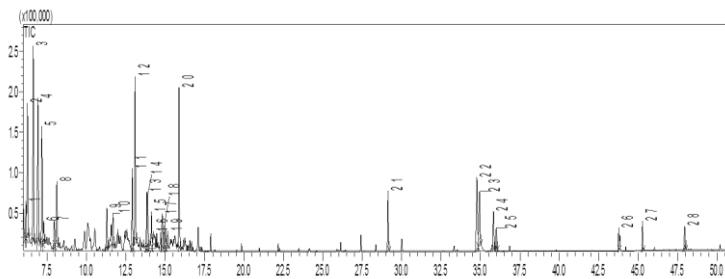


Tabela 28 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 50 % etanol, a 250 bar e 50 °C.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil, etil butanóico	6,236	7,78
3	Etil benzeno	6,596	10,29
4	o-Xileno	6,890	8,92
5	3-metil 1-butanol	7,139	6,41
8	Dodecano	8,082	4,43
11	1,2,4-Trimetil benzeno	12,877	3,86
12	Decano	13,057	8,04
13	Ácido 2-etilhexil oxálico	13,802	2,46
14	1,2,3-Trimetil benzeno	13,850	2,80
21	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	3,14
22	Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	5,72

C9. CG/MS ESC COM CO₂ + 75 % ETANOL, 250 bar e 50 °C

Figura 30 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 75 % etanol, a 250 bar e 50 °C.

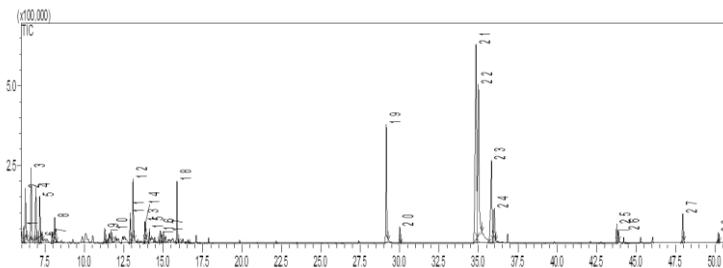


Tabela 29 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção e porcentagem da área do extrato da semente do tamarindo doce obtido com CO₂ + 75 % etanol, a 250 bar e 50°.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
2	Ácido 3-metil,etil butanóico	6,236	3,68
3	Etil benzeno	6,596	4,49
4	o-Xileno	6,890	3,83
5	3-metil 1-butanol	7,139	2,98
8	Dodecano	8,082	2,01
12	Decano	13,057	3,66
19	Ácido n-hexadecanóico (palmítico)	29,133	8,25
21	Ácido 9,12-octadecadienóico (linoléico)	34,824	23,24
22	Ácido cis vacênico	34,949	17,52
24	Oleato de etila	35,994	2,94
25	10,1-Biciclo tridec-1-eno	43,734	1,15
27	Tetratriacontano	47,925	1,84

C10. CG/MS ESC COM 100 % ETANOL, 250 bar e 50 °C

Figura 31 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, a 250 bar e 50 °C.

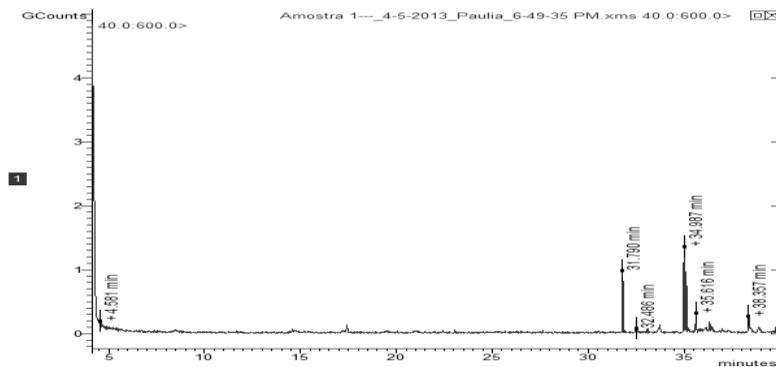


Tabela 30 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, a 250 bar e 50°.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
1	Ácido 14-metil pentadecanóico	31,789	26,85
2	Ácido 9,12-octadecadienóico	34,987	38,27
3	Trans 13-octadecenóico	35,105	25,87
4	Ácido 16-metil heptadecanóico	35,616	9,00

C10. CG/MS ESC COM 100 % ETANOL, 250 bar e 50 °C

Figura 32 - CG/MS do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, método Soxhlet.

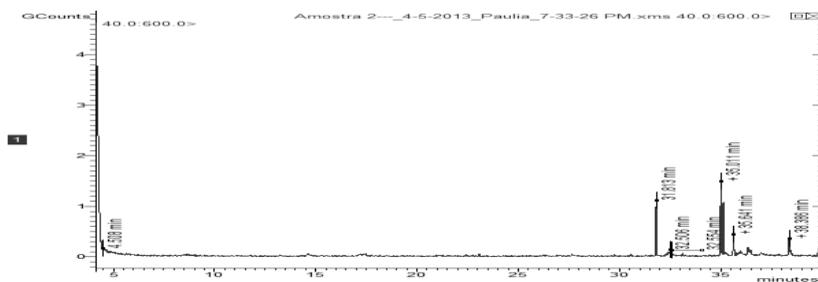


Tabela 31 - Principais compostos químicos identificados a partir do tempo de retenção do extrato da semente do tamarindo doce obtido com 100 % etanol, método Soxhlet.

Picos	Compostos químicos	Tempo de retenção (min)	Área (%)
1	Ácido hexadecanóico	31,789	23,21
2	Ácido 9,12-octadecadienóico	35,017	34,50
3	Ácido 9-octadecenóico	35,136	24,31
4	Ácido 16-metil heptadecanóico	35,616	9,33
5	Ácido 3-metil buti pentadecanóico	38,382	8,66