



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

Tháiris Karoline Silva Laurentino

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA  
FOLHA E CAULE DA CANA DO BREJO (*Costus spicatus*) POR DIFERENTES  
MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

Florianópolis  
2020

Tháiris Karoline Silva Laurentino

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA  
FOLHA E CAULE DA CANA DO BREJO (*Costus spicatus*) POR DIFERENTES  
MÉTODOS DE EXTRAÇÃO**

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

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan

Florianópolis

2020

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

Laurentino, Tháiris Karoline Silva  
Avaliação de compostos bioativos e potencial  
antioxidante da folha e caule da cana do brejo (*Costus  
spicatus*) por diferentes métodos de extração / Tháiris  
Karoline Silva Laurentino ; orientador, Ariovaldo Bolzan,  
2020.

106 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Química, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Cana do brejo (*Costus  
spicatus*). 3. Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. 4. Potencial  
anti-inflamatório. 5. Potencial antidiabético. I. Bolzan,  
Ariovaldo . II. Universidade Federal de Santa Catarina.  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

Tháiris Karoline Silva Laurintino

**Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante da folha e caule da cana do brejo (*Costus spicatus*) por diferentes métodos de extração**

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

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan  
UFSC/PósENQ

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Serafini Immich Boemo  
UFSC/PósENQ

Dr.<sup>a</sup> Daniela Gava Citadin  
About Solution/Paraná

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em engenharia química.

---

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Dr. Ariovaldo Bolzan  
Orientador

Florianópolis, 2020

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Serafim e Veralúcia, e a minha irmã Thuany.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me iluminar e me dar saúde para conseguir trilhar os meus objetivos. Sem Ele nada disso teria sido possível e a Nossa Senhora Aparecida.

Agradeço aos meus pais Serafim e Veralucia, pelo incentivo, pelo amor incondicional e por terem me ensinado os principais valores da vida, na qual, sempre estiveram à disposição para me ajudar nos momentos mais difíceis.

Agradeço imensamente a minha querida irmã Thuany, pelo apoio emocional, incentivo, amizade, sabedoria e paciência no dia-a-dia. Sem você, tudo seria mais difícil. Te amo irmãzinha.

Agradeço ao professor Dr. Ariovaldo Bolzan, pela ajuda, direcionamento, paciência e pela orientação prestada neste período de aprendizado.

À equipe de trabalho do LCP, em especial aos atuais colegas e ex-colegas da supercrítica, Thuany, Deise, Bruno, Thomas, Daniela e Alessandra, pelos conselhos e momentos de descontração.

À equipe do LATEC/UFSC, por disponibilizar tempo e espaço para a realização de diversas etapas deste trabalho, em especial ao Gustavo, Jonatas, Pedro, Jaime e Camila e ao Leandro da Central de Análises do EQA/UFSC.

Agradeço ao meu amigo Anderson, pelas dicas e amizade desde a UFRPE, como também, a Monique, João Pedro e Thayná, por nunca ter negado ajuda nas diversas vezes que eu solicitei.

Agradeço ao grupo de oração universitário (GOU) e Emaús, em que sempre estiveram ao meu lado, tanto para me apoiar como dar conselhos.

Ao CNPQ pelo suporte financeiro.

E a todas as demais pessoas e familiares que direta ou indiretamente, oraram e contribuíram para a realização deste trabalho.

“A árvore que plantas dar-te-á, talvez amanhã, o remédio que precisas”.  
Emmanuel.

## RESUMO

Desde os primórdios da humanidade, o uso de plantas medicinais acompanhava as sociedades humanas, ora como alimento e ora como remédio, usado para prevenir, melhorar e curar doenças. O Brasil é o país que detém a maior variedade de espécies vegetais do planeta, com mais de 40 mil espécies distribuídas ao longo do seu território. Esse patrimônio natural pode ser utilizado de diferentes formas, assim como, sua extração pode ser obtida por uma ampla variedade de técnicas, sendo a extração com dióxido de carbono no estado supercrítico destacada. Esta técnica é considerada uma tecnologia limpa, com impacto mínimo na atmosfera, alta eficiência e qualidade dos extratos. No entanto, para a obtenção de extrato das folhas e caules da Cana do brejo (*Costus spicatus*) não foram encontrados na literatura. Assim, justifica-se este trabalho por contribuir com dados relativos à flora brasileira, investigando a espécie medicinal *Costus spicatus* no que se refere à obtenção de extratos naturais e do óleo essencial, das folhas e caules, em diferentes métodos de extrações de baixa pressão (hidrodestilação, soxhlet e ultrassom) e alta pressão (CO<sub>2</sub> supercrítico), com finalidade de identificar compostos bioativos e avaliar o seu potencial antioxidante. Na extração soxhlet e ultrassom foram empregados os solventes hexano e etanol. Enquanto na extração com CO<sub>2</sub> supercrítico foi usado cossolvente (CS) etanol sob diversas condições operacionais (80-200 bar, 36-64°C e 0-20%CS). A identificação da composição química foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC/MS) e a avaliação de potencial antioxidante pelo método DPPH. Em termos de rendimento, as técnicas/solventes com melhor rendimento para as folhas da *Costus spicatus* foram: soxhlet com etanol (6,17%), extração supercrítica com cossolvente (4,12%) e ultrassom com etanol (3,86%). Para os caules, as melhores técnicas/solventes foram: soxhlet com etanol (5,06%), ultrassom com etanol (2,37%) e extração supercrítica com cossolvente (1,69%). As curvas de extração das folhas e caules da *Costus spicatus* apresentaram um comportamento típico das curvas de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. Com relação a composição química verificado planejamento experimental aplicado nas folhas, foi possível verificar que o Ácido linolênico, Friedelin e Ácido palmítico foram os compostos majoritários. Já nos caules, os compostos majoritários foram Sitosterol, Stigmasterol e Ácido palmítico. De acordo com os dados obtidos na literatura, os extratos das folhas da Cana do brejo podem ser usados para fins curativos, aliviando sintomas de problemas inflamatórios, enquanto os extratos dos caules podem ser empregados nos tratamentos de doenças com diabetes, conferindo propriedades antidiabéticas. As folhas e caules da *Costus spicatus* não apresentaram atividade antioxidante detectáveis pelo método empregado, DPPH, mas a partir de uma outra metodologia de eliminação do radical livre possa apresentar. Foi possível concluir que as folhas e caules da *Costus spicatus* possuem constituintes extraídos pela técnica de CO<sub>2</sub> supercrítico e cossolvente que podem ser potenciais candidatos ao desenvolvimento de novas formulações e fomas farmacêuticas.

**Palavras-chave:** Cana do brejo (*Costus spicatus*). Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. Potencial anti-inflamatório. Potencial antidiabético.



## ABSTRACT

Since the dawn of mankind, the use of medicinal plants has accompanied human societies, sometimes as food and sometimes as medicine, used to prevent, improve and cure diseases. Brazil is the country that holds the largest variety of plant species on the planet, with more than 40 thousand species distributed throughout its territory. This natural heritage can be used in different ways, as well as, its extraction can be obtained by a wide variety of techniques, with extraction with carbon dioxide in the supercritical state highlighted. This technique is considered a clean technology, with minimal impact on the atmosphere, high efficiency and quality of the extracts. However, to obtain extract of the leaves and stems of the swamp cane (*Costus spicatus*) were not found in the literature. Thus, this work is justified by contributing with data related to Brazilian flora, investigating the medicinal species *Costus spicatus* with regard to obtaining natural extracts and essential oil, from leaves and stems, in different low pressure extraction methods (hydrodistillation, soxhlet and ultrasound) and high pressure (supercritical CO<sub>2</sub>), in order to identify bioactive compounds and evaluate their antioxidant potential. In soxhlet and ultrasound extraction, the solvents hexane and ethanol were used. While extraction with supercritical CO<sub>2</sub>, co-solvent (CS) ethanol was used under various operating conditions (80-200 bar, 36-64°C and 0-20% CS). The chemical composition was identified by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC/MS) and the evaluation of antioxidant potential by the DPPH method. In terms of yield, the techniques / solvents with the best yield for *Costus spicatus* leaves were: soxhlet with ethanol (6.17%), supercritical extraction with cosolvent (4.12%) and ultrasound with ethanol (3.86%). For the stems, the best techniques/solvents were: soxhlet with ethanol (5.06%), ultrasound with ethanol (2.37%) and supercritical extraction with cosolvent (1.69%). The extraction curves of the leaves and stems of *Costus spicatus* showed a typical behavior of the extraction curves with supercritical CO<sub>2</sub>. Regarding the chemical composition verified experimental design applied to the leaves, it was possible to verify that linolenic acid, Friedelin and palmitic acid were the major compounds. In the stems, the major compounds were Sitosterol, Stigmasterol and Palmitic acid. According to the data obtained in the literature, the extracts of the leaves of the swamp can be used for curative purposes, relieving symptoms of inflammatory problems, while the extracts of the stems can be used in the treatment of diseases with diabetes, conferring antidiabetic properties. The leaves and stems of *Costus spicatus* did not present antioxidant activity detectable by the method employed, DPPH, but from another methodology of elimination of the free radical may present. It was possible to conclude that the leaves and stems of *Costus spicatus* have constituents extracted by the supercritical and co-solvent CO<sub>2</sub> technique that can be potential candidates for the development of new pharmaceutical formulations and forms.

**Keywords:** Swamp cane (*Costus spicatus*). Extraction with supercritical CO<sub>2</sub>. Anti-inflammatory potential. Antidiabetic potential.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ordem, família e gênero da espécie <i>Costus spicatus</i> . .....	23
Figura 2. Aparelho Clevenger. ....	27
Figura 3. Esquema de extração por Soxhlet. ....	28
Figura 4. Diagrama de fases para uma substância. ....	30
Figura 5. Densidade reduzida <i>versus</i> pressão reduzida para o dióxido de carbono puro. ....	32
Figura 6. Curva típica de extração com CO <sub>2</sub> supercrítico com suas três etapas: taxa de extração constante (CER), taxa de extração decrescente (FER) e taxa difusional (DC). ....	33
Figura 7. Fluxograma das atividades desenvolvidas no presente trabalho. ....	35
Figura 8. Saco de rafia contendo a matéria prima <i>in natura</i> (A), moedor de café (B) e o liquidificador (C). ....	36
Figura 9. Sistema utilizado para extração por hidrodestilação (A) e balão de fundo redondo com a matriz vegetal (folhas) e o solvente (água destilada). ....	38
Figura 10. Aparelho para a realização da extração por soxhlet em folhas (A) e caules (B) da <i>Costus spicatus</i> . ....	39
Figura 11. Cartucho inserido no aparelho extrator (A) e Rotaevaporador (B). ....	40
Figura 12. Extrato etanólico para ser filtrado. Folhas (A) e caules (B). ....	41
Figura 13. Unidade de extração supercrítica – HPLC-SC. ....	41
Figura 14. Diagrama da unidade de extração supercrítica – HPLC-SC. ....	42
Figura 15. Efeito da concentração do cossolvente no rendimento do extrato supercrítico de folhas (A) e caules (B) da <i>Costus spicatus</i> , na pressão 140 bar e temperatura 50°C. ....	64
Figura 16. Isotermas de rendimento de extração supercrítica para folhas (A) e caules (B) ( <i>Costus spicatus</i> ), com adição de 5% de cossolvente no processo. ....	65
Figura 17. Efeito da pressão e temperatura sobre o rendimento do extrato supercrítico das folhas e caules ( <i>Costus spicatus</i> ), com adição de 5% de cossolvente no processo. ....	67
Figura 18. Efeito da pressão sobre o rendimento do extrato supercrítico das folhas e caules ( <i>Costus spicatus</i> ), com adição de 5% de cossolvente no processo e temperatura 40 °C. ....	68

Figura 19. Gráfico de pareto. (A) Extração com CO <sub>2</sub> supercrítico de folhas ( <i>Costus spicatus</i> ). (B) Extração com CO <sub>2</sub> supercrítico de caules ( <i>Costus spicatus</i> ).....	71
Figura 20. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para folhas ( <i>Costus spicatus</i> ). (A) Superfície de resposta da pressão em função da concentração de cossolvente. (B) Linhas de contorno da pressão em função da concentração de cossolvente.....	73
Figura 21. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para caules ( <i>Costus spicatus</i> ). (A) Superfície de resposta da pressão em função da concentração de cossolvente. (B) Linhas de contorno da pressão em função da concentração de cossolvente.....	74
Figura 22. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para folhas ( <i>Costus spicatus</i> ). (A) Superfície de resposta da pressão em função temperatura. (B) Linhas de contorno da pressão em função da temperatura.....	75
Figura 23. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para caules ( <i>Costus spicatus</i> ). (A) Superfície de resposta da pressão em função temperatura. (B) Linhas de contorno da pressão em função da temperatura.....	75
Figura 24. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para folhas ( <i>Costus spicatus</i> ). (A) Superfície de resposta da concentração do cossolvente em função temperatura. (B) Linhas de contorno da concentração do cossolvente em função da temperatura.....	76
Figura 25. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para caules ( <i>Costus spicatus</i> ). (A) Superfície de resposta da concentração do cossolvente em função temperatura. (B) Linhas de contorno da concentração do cossolvente em função da temperatura.....	77
Figura 26. Valores preditos <i>versus</i> observados. Extração com CO <sub>2</sub> supercrítico de <i>Costus spicatus</i> . (A) Folhas e (B) Caules.....	78
Figura 27. Curva de extração supercrítico nas folhas e caules ( <i>Costus spicatus</i> ), na condição de 140bar, 50°C e 20% de etanol e vazão de 3,0 mL/min.....	78
Figura 28. Curvas de extração supercrítica nas folhas ( <i>Costus spicatus</i> ) em três condições diferentes, I - 140bar, 50°C e 10%, e vazão de 3,0mL/min; II - 140bar, 50°C e 10%, e vazão de 7,0 mL/min e III - 140bar, 50°C e 20%, e vazão de 3,0 mL/min. ....	79

Figura 29. Compostos majoritários das extrações com CO <sub>2</sub> supercrítico de <i>Costus spicatus</i> . (A) Folhas e (B) Caules.....	83
Figura 30. Comparação dos perfis químicos dos extratos das folhas <i>Costus spicatus</i> obtidos nas pressões 110 e 170bar, temperaturas 40 e 60°C e uma concentração de cossolvente fixa em 5%.....	84
Figura 31. Comparação dos perfis químicos dos extratos das folhas <i>Costus spicatus</i> obtidos nas pressões 110 e 170bar, concentrações de cossolvente 5 e 15% e temperatura fixa em 40°C.....	85
Figura 32. Comparação dos perfis químicos dos extratos dos caules <i>Costus spicatus</i> obtidos nas pressões 110 e 170bar, temperaturas 40 e 60°C e uma concentração de cossolvente fixa em 5%.....	86
Figura 33. Comparação dos perfis químicos dos extratos dos caules <i>Costus spicatus</i> obtidos nas concentrações de 5 e 15% de cossolvente, em uma pressão de 170bar e temperatura de 60°C.....	87
Figura 34. Valores de rendimento global de extração usando técnicas com solventes para as folhas e caules da <i>Costus spicatus</i> .....	90
Figura 35. Comparação da composição química dos extratos da <i>Costus spicatus</i> obtidos por técnicas de baixa e alta pressão. (A) Folhas e (B) Caules.....	91

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Percentual de rendimento encontrado na literatura. ....	62
Quadro 2. A concentração inibitória dos potenciais antioxidantes do extrato de folha e caule de <i>Costus spicatus</i> . ....	93

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades de fluidos no estado gasoso, líquido e supercrítico. ....	31
Tabela 2. Valores utilizados no Delineamento Composto Central Rotacional para três fatores, tanto para folha, quanto para caule. ....	43
Tabela 3. Variáveis codificadas e reais do Delineamento Composto Central Rotacional para três variáveis (pressão, temperatura e concentração de cossolvente) em folhas ( <i>Costus spicatus</i> ). ....	44
Tabela 4. Variáveis codificadas e reais do Delineamento Composto Central Rotacional para três variáveis (pressão, temperatura e concentração de cossolvente) em caules ( <i>Costus spicatus</i> ). ....	45
Tabela 5. Experimentos adicionais. ....	46
Tabela 6. Parâmetros do leito fixo – Folhas e Caules ( <i>Costus spicatus</i> ). ....	49
Tabela 7. Composição química do óleo essencial das folhas - <i>Costus spicatus</i> obtido pela técnica de hidrodestilação. ....	51
Tabela 8. Rendimento global (R) das extrações de folhas e caules da <i>Costus spicatus</i> a baixa pressão, utilizando dois solventes de diferentes polaridades. ....	52
Tabela 9. Composição química do extrato das folhas ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Soxhlet (Hexano). ....	54
Tabela 10. Composição química do extrato das folhas ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Soxhlet (Etanol). ....	55
Tabela 11. Composição química do extrato de caules ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Soxhlet (Hexano). ....	56
Tabela 12. Composição química do extrato de caules ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Soxhlet (Etanol). ....	56
Tabela 13. Composição química do extrato de folhas ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Ultrassom (Hexano). ....	57
Tabela 14. Composição química do extrato de folhas ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Ultrassom (Etanol). ....	58

Tabela 15. Composição química do extrato de caules ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Ultrassom (Hexano).....	58
Tabela 16. Composição química do extrato de caules ( <i>Costus spicatus</i> ) obtido pela técnica de Ultrassom (Etanol).....	59
Tabela 17. Compostos majoritários dos extratos hexânicos e etanólicos das folhas e caules da <i>Costus spicatus</i> obtidos por soxhlet e ultrassom. ....	59
Tabela 18. Rendimento obtido a partir do planejamento experimental completo para a extração supercrítica das folhas e caules ( <i>Costus spicatus</i> ). ....	63
Tabela 19. Coeficientes de regressão para a resposta rendimento global de extração supercrítica para folha ( <i>Costus spicatus</i> ).....	69
Tabela 20. Coeficientes de regressão para a resposta rendimento global de extração supercrítica para caule ( <i>Costus spicatus</i> ).....	69
Tabela 21. ANOVA – Análise de Variância para os dados obtidos na extração supercrítica para folhas ( <i>Costus spicatus</i> ).....	72
Tabela 22. ANOVA – Análise de Variância para os dados obtidos na extração supercrítica para caules ( <i>Costus spicatus</i> ).....	72
Tabela 23. Perfil químico dos extratos obtidos nas condições do planejamento experimental para as folhas <i>Costus spicatus</i> . ....	81
Tabela 24. Perfil químico dos extratos obtidos nas condições do planejamento experimental para os caules <i>Costus spicatus</i> .....	81
Tabela 25. Constituintes fitoquímicos dos compostos majoritários do extrato supercrítico de caules e folhas ( <i>Costus spicatus</i> ) e suas atividades. ....	88
Tabela 26. Valores de rendimento global de extração usando técnicas com solventes para as folhas e caules da <i>Costus spicatus</i> aplicando técnicas com solvente de baixa e alta pressão. .	89

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	21
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>22</b>
3.1. PLANTAS MEDICINAIS .....	22
3.2 <i>COSTUS SPICATUS</i> .....	23
3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATOS NATURAIS ....	24
3.3.1 Atividade Antioxidante .....	25
3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	26
3.4.1 Hidrodestilação.....	27
3.4.2 Extração por Soxhlet .....	27
3.4.3 Extração por Ultrassom .....	28
3.4.4 Extração com Fluido Supercrítico.....	29
3.4.4.1 Fluidos Supercríticos.....	30
3.4.4.2 Dióxido de Carbono supercrítico .....	31
3.4.4.3 Curvas de Extração.....	33
<b>4. MATERIAS E MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
4.1 FLUXOGRAMA DO TRABALHO.....	35
4.2 MATÉRIAS PRIMAS .....	36
4.2.1 Distribuição Granulométrica .....	36
4.2.2 Caracterização do Leito de Partículas .....	37
4.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	37
4.3.1 Extração por Hidrodestilação .....	38
4.3.2 Extração por Soxhlet .....	39
4.3.3 Extração por Ultrassom .....	40
4.3.4 Extração Supercrítica .....	41
4.3.4.1 Planejamento Experimental.....	42
4.3.4.2 Curvas de Extração.....	47
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS.....	49
5.2 PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO .....	50
5.2.1 Extração por Hidrodestilação .....	50
5.2.2 Extração usando Solventes.....	51



5.3 EXTRAÇÃO COM CO <sub>2</sub> SUPERCRÍTICO .....	61
5.3.1 Teste Preliminar e Análise do Perfil do Extrato.....	61
5.3.2 Extração com CO <sub>2</sub> Supercrítico .....	63
5.3.2.1 Rendimento global da Extração Supercrítica .....	63
5.3.2.2 Análise Estatística .....	68
5.3.2.3 Curvas globais de Extração .....	78
5.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS OBTIDOS POR MEIO DA EXTRAÇÃO COM CO <sub>2</sub> SUPERCRÍTICO .....	80
5.5 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE <i>COSTUS SPICATUS</i> .....	89
5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH .....	92
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>95</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>99</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da humanidade, o uso de plantas medicinais acompanhava as sociedades humanas, ora como alimento, ora como remédio, usado para prevenir, melhorar e curar doenças. Inicialmente, os seres humanos começaram a fazer uso dessas plantas por instinto, pela imitação dos animais. Posteriormente, a descoberta das propriedades nocivas ou não, constituintes nas plantas, aconteceu por meio do conhecimento empírico (onde o homem observava o comportamento dos animais). Antes disso, devido ao desconhecimento, o homem estava sujeito, muitas vezes, a efeitos colaterais graves, levando até a morte (SMSDC, 2011; AZEVEDO et al., 2014; MONTEIRO e BRANDELLI, 2017).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 85% das pessoas do mundo utilizam plantas medicinais para tratar doenças (TEIXEIRA et al., 2014). Esses dados mostram como as plantas naturais são populares e utilizadas, sendo justificadas por diversos fatores, como menor custo ao serem adquiridas e falta de acesso à assistência médica e farmacêutica. Além disso, por ser um método natural, o uso de plantas visa uma ideia de desenvolvimento sustentável, respeitando o meio ambiente e promovendo ao consumidor uma melhor qualidade de vida por serem isentos de ingredientes químicos. Porém, muitos consumidores consideram, erroneamente, que estas plantas apresentam um menor risco a saúde em relação aos medicamentos, quando ingeridos em excesso (BRUNING, MOSEGUI e VIANNA, 2012; BORGES, 2016).

Assim, neste contexto e buscando contribuir com a cultura medicinal, é possível identificar um aumento no interesse de pesquisadores em comprovar o uso de diversas plantas medicinais, promovendo o desenvolvimento de novos fármacos e garantindo uma utilização racional e segura dos compostos extraíveis de plantas.

O Brasil é o país que detém a maior variedade de espécies vegetais do planeta, com mais de 40 mil espécies distribuídas ao longo do seu território (MMA, 2011). Esse patrimônio natural pode ser utilizado de diferentes formas, dependendo das substâncias bioativas identificadas e das suas atividades biológicas. Quando as espécies possuem ação farmacológica, baseadas na tradição popular ou validada cientificamente, a planta apresenta classificação medicinal (SILVA, SANTOS e RABELO, 2010).

A *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. é uma planta medicinal, encontrada em florestas úmidas costeiras. No Brasil, é praticamente nativa, onde as regiões da Mata Atlântica e Amazônica apresentam sua maior exibição (LORENZI e MATOS, 2002). É comumente chamada de cana do brejo, como também, cana de macaco ou cana do mato (BITENCOURT

e ALMEIDA, 2014). Pertence a ordem *Zingiberales*, cuja família é a *Costaceae*, constituída por quatro gêneros: *Costus*, *Monocostu*, *Dimerocostus* e *Tapcinochielas*. O gênero *Costus* é o mais importante comercialmente, com 125 a 175 espécies distribuídas sobre as regiões tropicais de todos os continentes, onde a maioria são encontradas nos Neotrópicos, isto é, nas Américas (BARRETO, 2011; AZEVEDO et al., 2014).

Espécies do gênero *Costus*, como é o caso de *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe, *Costus cuspidatus* (Nee&Mart.) e *Costus spicatus* (Jacq.), podem ser cultivadas com a finalidade ornamental, como em jardins e produção de flor de corte, e como opção na medicina tradicional, por meio do uso de suas folhas, caule e rizomas (BARRETO, 2011).

Estudos realizados com os caules, folhas e flores da Cana do brejo (*Costus spicatus*), comprovaram a presença de triterpenos e esteróides, flavonóides, saponinas, alcalóides e taninos. Além disso, os autores demonstraram que os extratos apresentaram um potencial para a atividade antioxidante (AZEVEDO et al., 2014).

Sabe-se que os óleos essenciais correspondem a uma mistura de compostos com estruturas orgânicas de baixo peso molecular, enquanto que os extratos apresentam, além dos compostos de baixo peso molecular, também os de alto peso molecular. Se for empregada uma tecnologia adequada e dependendo do local de extração no órgão vegetal, a qualidade e a composição do produto final podem variar (ROSSO, 2009; VIERA, 2016). Assim, os óleos essenciais e os extratos da *Costus spicatus* podem revelar a presença de compostos bioativos de grande importância para a indústria de alimentos e/ou farmacêutica.

A extração dos compostos bioativos de plantas pode ser realizada utilizando uma ampla variedade de técnicas. Os óleos essenciais são obtidos por meio da técnica de hidrodestilação ou arraste a vapor. Enquanto que outras técnicas de extração, como soxhlet, ultrassom e fluidos supercríticos, são utilizados para a obtenção de extratos naturais (REGNAULT-ROGER et al., 2012). Conforme a tecnologia de extração aplicada à matriz vegetal, estes apresentam critérios que são cruciais para definir sua escolha.

Com intuito de ter uma técnica mais seletiva na separação de compostos desejados, sem deixar resíduos tóxicos e preservando o meio ambiente, a extração com fluido no estado supercrítico utilizando o solvente CO<sub>2</sub>, se destaca. Esta técnica é considerada uma tecnologia limpa, com impacto mínimo na atmosfera, alta eficiência e qualidade dos extratos. Além disso, as principais vantagens desta tecnologia são as baixas temperaturas empregadas, ausência de resíduos de solventes e seletividade no processo, atributos importantes para as indústrias farmacêuticas, cosmética e alimentícia. A principal desvantagem do dióxido de carbono é apresentar pouca habilidade para extrair moléculas polares, mesmo em condições

de altas densidades. Desta forma, o uso de substâncias polares, como etanol, é utilizado para melhorar a solubilidade dos compostos desejados e/ou aumentar a seletividade da extração (ROSSO COMIM et al., 2010; PIES, 2017).

Assim, justifica-se este trabalho por contribuir com dados relativos à flora brasileira, investigando a espécie medicinal *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. por meio de estudos fitoquímicos e avaliação da sua atividade antioxidante, possibilitando a aquisição de novas fontes de substâncias bioativas. Além disso, o trabalho busca oferecer uma opção para a substituição de medicamentos sintéticos por naturais. Vale destacar que, não foram encontrados na literatura dados sobre a extração com fluido supercrítico da cana do brejo (*Costus spicatus*), tanto para folhas quanto para os caules, mostrando que este trabalho apresenta caráter inédito.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O objeto geral deste trabalho se refere à obtenção de extratos naturais e do óleo essencial das folhas e caules da cana do brejo (*Costus spicatus*), em diferentes métodos de extrações a baixa pressão e alta pressão, com a finalidade de identificar compostos bioativos e avaliar o seu potencial antioxidante.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Obter o óleo essencial das folhas *Costus spicatus* pela técnica de hidrodestilação;
- b) Obter extratos e identificar os compostos majoritários das folhas e caules da *Costus spicatus* por meio da técnica de soxhlet e ultrassom, utilizando solventes de diferentes polaridades;
- c) Determinar as condições operacionais (temperatura, pressão, cossolvente e tempo) mais adequadas para a extração supercrítica das folhas e caules da *Costus spicatus*;
- d) Avaliar o rendimento em função das condições de processo por meio da extração com CO<sub>2</sub> supercrítico com adição de cossolvente;
- e) Verificar as curvas de extração supercrítica;
- f) Determinar e avaliar a composição química dos extratos obtidos pela técnica de CO<sub>2</sub> supercrítico com adição de cossolvente;
- g) Comparar as técnicas convencionais de extração soxhlet e ultrassom com a extração supercrítica, em termos de rendimento global e seletividade;
- h) Determinar e comparar o potencial antioxidante pelo método DPPH dos extratos etanólicos, obtidos pelas técnicas soxhlet e ultrassom, e extratos supercríticos, obtidos em condições selecionadas dos processos envolvendo a técnica de alta pressão.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No presente capítulo é apresentada uma breve revisão sobre plantas medicinais, relatando aspectos relevantes presentes na literatura e ressaltando as principais características relacionados a matriz vegetal, Cana do brejo (*Costus spicatus*). Na sequência, será abordado sobre óleos essenciais, extratos naturais e, por fim, os métodos de extração utilizados neste estudo.

#### 3.1. PLANTAS MEDICINAIS

A utilização de plantas naturais aconteceu desde os primórdios da humanidade, quando o homem, por instinto, imitava os animais e observava o seu comportamento. O conhecimento empírico, com relação ao emprego de plantas para tratamento de enfermidades humanas, foi transmitido de geração em geração até se disseminarem com o surgimento das civilizações modernas (SMSDC, 2011; AZEVEDO et al., 2014).

Há anos que as populações buscam recursos na natureza para prover suas necessidades e melhorar suas próprias condições de vida. No Brasil, inicialmente, a prática do uso de plantas nativas para fins curativos foi adotada pelos grupos indígenas, com a intenção de promover a cura para várias doenças. Posteriormente, o cultivo de plantas pertencentes a vários países, da Europa, Ásia, Índia e África, favoreceu ao Brasil o maior empório mundial de plantas (BARRETO, 2011; OLIVEIRA, 2012).

Segundo o boletim do Sistema Nacional de Informações Florestais – SNIF, em 2018, o Brasil deteve a segunda maior área florestal do planeta, com aproximadamente 510 milhões de hectares do seu território (59%) cobertos com florestas nativas (500 milhões) e florestas plantadas (10 milhões), perdendo apenas para a Rússia. Com relação a extensão de cobertura florestal no estado de Santa Catarina, um levantamento de dados mostra que é de aproximadamente 3 milhões de hectares, correspondendo a 32% do território do estado (IFN-SC, 2018).

Dentre a enorme variedade de plantas, pode-se destacar as categorizadas como medicinais, que são plantas que possuem princípios ativos (substâncias bioativas), os quais são produzidos durante o seu metabolismo e são os responsáveis pela ação terapêutica nos vegetais (SOUZA e RODRIGUES, 2016). Podem se destacar: flavonoides, taninos, quinonas, saponinas, alcaloides, fenóis, glicosídeos, óleos essenciais, vitaminas, pectinas e princípios amargos (OLIVEIRA, 2012).

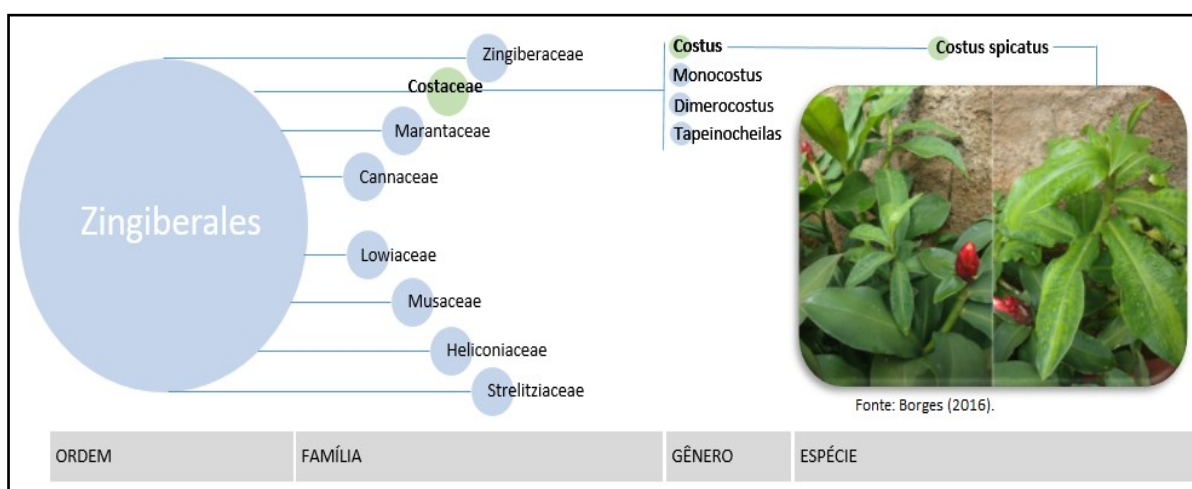
Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 85% da população mundial faz uso de plantas medicinais (TEIXEIRA et al., 2014). Esta situação pode ser influenciada por diferentes fatores, como condições financeiras, principalmente em comunidades precárias, por ser de fácil acesso e baixo custo, e deficiência em assistência médica e farmacêutica, onde as plantas se tornam a única alternativa de cura. Além disso, outro fator que pode estar influenciando é a tendência atual de substituição de medicamentos sintéticos por plantas medicinais, que corresponde a um método natural que visa a ideia do desenvolvimento sustentável (BRUNING, MOSEGUI e VIANNA, 2012; BORGES, 2016).

Neste contexto, a comunidade científica busca comprovar as plantas de uso popular, identificando e confirmando os efeitos curativos dessas plantas para o tratamento de diversas doenças. Além disso, os pesquisadores avaliam e emitem certificados quanto a toxicidade, para que os princípios ativos possam ser aproveitados corretamente, garantindo o seu uso médico adequado.

### 3.2 *COSTUS SPICATUS*

A *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. é uma espécie pertencente à ordem Zingiberales, cuja família e gênero são Costaceae e Costus, respectivamente, conforme a Figura 1. Os principais nomes atribuídos popularmente a essa espécie são: cana do brejo, cana de macaco, cana do mato e cana mansa. O elemento “cana” é em menção a sua haste longa e rígida. É uma planta nativa em quase todo o Brasil, com maior concentração na mata atlântica e região amazônica (AZEVEDO et al., 2014; BITENCOURT e ALMEIDA, 2014; BORGES, 2016).

Figura 1. Ordem, família e gênero da espécie *Costus spicatus*.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Caracteriza-se por ser uma espécie vegetal cujo ciclo de vida é longo (perene), rizomatosa (caules subterrâneos), cespitosa, ereta e não ramificada. Quanto adulta, pode alcançar 2 metros de altura. Apresenta folhas membranáceas, de 25-40 cm de comprimento, com brácteas vermelhas e flores de coloração amarela. Sua multiplicação pode ser por sementes e rizomas (LORENZI e MATOS, 2002).

A *Costus spicatus* pode ser cultivada para fins ornamentais, usadas em jardins e na produção de flor de corte, devido ser muito vigorosa e florífera, ou medicinais, onde as suas folhas, caules e rizomas vem sendo utilizados conforme a tradição popular para uso medicinal (PEDROSA, 2017).

A infusão das partes aéreas da *Costus spicatus*, ou seja, suas folhas e caules, demonstram ação para tratar resfriados, dor na garganta e diarreia. O suco do caule fresco diluído em água tem uso contra a sífilis, picadas de insetos, problemas da bexiga e diabetes. Além disso, informações etnofarmacológicas apontam o uso da estrutura que fica abaixo da terra (raízes e rizomas) para o tratamento de várias doenças, pois apresentam ação diurético (atuam nos rins), tônico, emenagogo (aumenta o fluxo menstrual) e diaforético (provoca transpiração) (LORENZI e MATOS, 2002; AZEVEDO et al., 2014).

### 3.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATOS NATURAIS

Os óleos essenciais e os extratos naturais apresentam grande importância econômica para diversos ramos da indústria mundial. São de grande interesse para indústria farmacêutica, devido às propriedades medicinais, e indústrias de aroma e fragrância, incluindo companhias de bebidas, alimentos, cosméticos e perfumes (LEAL, 2008; BARROSO, 2011).

Os óleos essenciais correspondem a uma mistura de compostos naturais com estruturas orgânicas de baixo molecular, enquanto os extratos naturais apresentam compostos de baixo e alto peso molecular. São obtidos a partir de diversas fontes vegetais, desde folhas e ervas, passando por raízes e cascas, chegando até sementes. Caracterizados por seus odores e aparência oleosa, os óleos e extratos podem apresentar composição química, características físico-químicas e odores distintos quando extraídos de órgãos diferentes de uma mesma planta (SIMÕES e SPITZER, 2003).

A produção de metabólitos secundários, componentes que constituem os óleos essenciais e os extratos naturais, tem como função proteger a planta contra estresses bióticos e abióticos. Podem ser divididos em dois grupos: grupo I - compostos de origem terpênica, que são monoterpenos ( $C_{10}$ ), sesquiterpenos ( $C_{15}$ ), hemiterpenos ( $C_5$ ), diterpenos ( $C_{20}$ ), triterpenos ( $C_{30}$ ) e tetraterpenos ( $C_{40}$ ), e grupo II - compostos aromáticos, que ocorrem com menor



frequência, e são aldeídos, álcoois, fenóis, metoxi e metileno dioxi. Dentre os compostos do grupo I, os monoterpenos podem ser destacados. Esses compostos são responsáveis por construir a maior parte dos metabólitos secundários, formados por carbures, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, éteres, peróxidos e fenóis (BAJPAI et al., 2012; BAKKALI et al., 2008; SILVA, 2013).

A composição química dos metabólitos secundários pode variar de acordo com o horário e a época de colheita, com as condições do clima e do solo, estágio de desenvolvimento da planta, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, altitude, poluição atmosférica, tipo de extração utilizada e outros fatores que influenciam na síntese desses compostos (SIMÕES e SPITZER, 2003; SILVA, 2013).

Estudos realizados com a *Costus spicatus* demonstram a existência de importantes metabólitos secundários na sua composição química. Bitencourt e Almeida (2014), De Souza et al. (2004) e Silva et al. (2008) submeteram partes aéreas desta espécie vegetal ao processo de extração etanólica e verificaram a presença de alcaloides, fenóis e taninos. As substâncias bioativas presentes nos extratos apresentaram uma ampla variedade de atividades biológicas, corroborando com as aplicações da *Costus spicatus* empregadas pela medicina popular. Além disso, suas partes aéreas já apresentam as seguintes atividades farmacológicas comprovadas: antifúngico e afecções renais, confirmando a sua atividade diurética, principal finalidade do uso da planta.

### 3.3.1 Atividade Antioxidante

Em termos biológicos, os antioxidantes agem como mecanismos de defesa no organismo humano, pois atacam os radicais livres nas células. Esses radicais livres consistem em espécies químicas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados (REIS, 2013).

A avaliação da atividade antioxidante de substâncias pode ser realizada por meio de ensaios químicos *in vitro* e/ou biológicos *in vivo*. Dentre os ensaios *in vitro*, o método de eliminação do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) tem sido amplamente utilizado para predizer a capacidade antioxidante do referido extrato analisado, por ser um método rápido e de baixo custo. Dependendo da concentração do extrato, a atividade de eliminação do radical pode sofrer variação (PEDROSA, 2017).

O radical livre DPPH apresenta coloração violeta e, ao reagir com uma substância antioxidante, sofre descoloração para amarela claro. Esta alteração na coloração pode ser explicada pela ocorrência da transferência de elétrons do substrato para o radical, gerando sua forma estável (ROMALHO e JORGE, 2006; PEDROSA, 2017).

Estudos mostram que a ingestão de antioxidantes obtidos da dieta de origem natural, tais como, as vitaminas C, E e A, os flavonóides e caratenóides, ajudam na prevenção de certas doenças, como câncer e problemas cardiovasculares. Embora os antioxidantes de origem sintética, como BHA (hidroxianisol de butila) e BHT (hidroxitolueno de butila), apresentem esse potencial de ação, foram limitados para uso na indústria de alimentos por causa de questionamentos sobre sua inocuidade (REIS, 2013; BERBER et al., 2014).

Existem na literatura pesquisas sobre extratos naturais e potencial antioxidante utilizando a espécie *Costus spicatus*. Azevedo et al. (2014), ao estudarem caules, folhas e flores da Cana do brejo, analisaram o perfil fitoquímico e a atividade antioxidante pelo método DPPH, nas frações hexânica, acetato de etila e butanólica. Os resultados obtidos comprovaram a presença de triterpenos e esteróides, flavonóides, saponinas, alcalóides e taninos. Além disso, os autores demonstraram que os extratos apresentaram um potencial para a atividade antioxidante.

O mesmo método do sequestro do radical livre, DPPH, também revelou potencial antioxidante no extrato em etanol de caule e no extrato em acetona de ramos da *Costus spicatus*, descritos nos trabalhos de Pedrosa (2017) e Uliana, Silva e Fronza (2015), respectivamente. Ambos empregaram o material vegetal em sucessivas extrações com solventes de polaridade crescente, obtendo uma extração fracionada.

Diante dos dados apresentados na literatura, observa-se que existem muitas espécies que apresentam lacunas sobre a obtenção dos seus compostos bioativos e suas possíveis atividades biológicas. A espécie *Costus spicatus*, principalmente, as suas folhas e caules, foi pouco explorada, gerando grande importância para o presente trabalho, já que este buscará atribuir valor a planta, indicando uma nova fonte para obtenção de substâncias bioativas e promovendo a possibilidade de aplicação de tais substâncias em medicamentos, garantindo uma melhor qualidade de vida para a população.

### 3.4 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Os extratos naturais e óleos essenciais podem ser isolados por diferentes métodos de extração. A composição e a qualidade final dos extratos obtidos a partir de produtos naturais podem variar significativamente, dependendo do método utilizado. Os métodos convencionais são hidrodestilação, soxhlet, maceração, dentre outros. A extração por fluido supercrítico, ultrassom e aquecimento por microondas são alguns exemplos de métodos não convencionais (BISCAIA, 2007; AZMIR et al., 2013). Neste trabalho, optou-se por utilizar as técnicas de hidrodestilação, soxhlet, ultrassom e extração supercrítica.

### 3.4.1 Hidrodestilação

O método de hidrodestilação é empregado com o uso do aparelho Clevenger, Figura 2. Neste equipamento, o material a ser destilado fica em contato direto com a água, onde recebe aquecimento até entrar em ebulição, resultando na formação de vapor. Este vapor arrasta os compostos voláteis consigo, inclusive o óleo, e quando passa por um condensador, na qual é resfriado, ocorre a formação de duas fases imiscíveis, separados por meio da decantação (BOONE, 2011; SILVA, 2011).

Figura 2. Aparelho Clevenger.



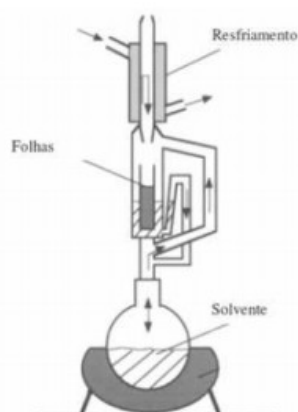
Fonte: BOONE, 2011.

No processo de extração do óleo essencial, a hidrodestilação é um método antigo e versátil, no qual ainda é o mais utilizado em escala laboratorial, principalmente em função do baixo custo e simplicidade. Este método é apropriado para vários tipos de matrizes vegetais, como flores, folhas, raízes, sementes, pós, entre outros. Porém, de acordo com a literatura, a principal desvantagem desta técnica corresponde a degradação térmica dos produtos, a possibilidade de promover reações de hidrólise, baixo rendimento e alto tempo de extração (LEAL, 2008; SANTOS, 2011).

### 3.4.2 Extração por Soxhlet

O processo de extração por soxhlet consiste em colocar o solvente orgânico em contato com a matriz vegetal, repetidas vezes, para que ocorra a transferência do extrato presente na matriz para o solvente. Após a extração, o solvente presente na fase líquida é removido por evaporação para a obtenção do óleo (STEFFANI, 2003). A Figura 3 demonstra o equipamento utilizado pelo método soxhlet na extração por solvente.

Figura 3. Esquema de extração por Soxhlet.



Fonte: SARTOR, 2009.

Para a utilização da extração por soxhlet, é necessário observar as especificidades de cada óleo. Esta técnica consiste em um método de extração bastante utilizado, por ser mais brando e que resulta em um alto teor de rendimento. Além disso, permite a renovação do solvente durante todo o processo, por meio da recirculação (SARTOR, 2009).

Existe uma ampla variedade de solventes orgânicos que podem ser utilizados na extração por soxhlet, como hexano, benzeno, metanol, etanol, acetona, entre outros. O principal problema do uso desses solventes orgânicos é a remoção de todo solvente residual, que necessita de um alto custo de investimento em equipamentos, devido elevados gastos energéticos. Além disso, os solventes podem provocar alterações indesejáveis no extrato, como sabor e aroma, e provocar efeitos tóxicos nos consumidores (SARTOR, 2009; BENELLI, 2010).

#### 3.4.3 Extração por Ultrassom

Além das técnicas citadas, a extração por ultrassom tem recebido destaque, já que apresenta tempo de extração reduzida, baixa temperatura e elevada taxa de extração. Esta técnica utiliza a energia das ondas sonoras (vibrações mecânicas), que se propagam em meios sólidos, líquidos e gasosos, em frequências de 20,0 - 100,0 kHz, criando no meio que se propagam ciclos de expansão e compressão (BENELLI, 2010; GUINDANI, 2014).

Um dos fenômenos produzidos quando o ultrassom se propaga nos líquidos é a cavitação, na qual provoca a formação de microbolhas, que aumentam e diminuem de tamanho até que as bolhas se implodem e, conseqüentemente, podem produzir efeitos físicos, químicos e mecânicos. Estes efeitos podem resultar na ruptura da parede celular e na geração

de turbulência, auxiliando no aumento da transferência de massa. Esses processos podem ser produzidos por diferentes equipamentos de ultrassom, sendo o banho (direto ou indireto) e a sonda ultrassônica mais comumente utilizados. A vantagem de utilizar a sonda ultrassônica é a simplicidade do equipamento, tempo de extração reduzido (menor que a extração soxhlet) e por transmitir energia de forma direta na matriz vegetal. Porém, devido a sonificação direta provocar um aumento de temperatura, o uso da sonda ultrassônica pode causar a degradação de compostos termolábeis, falta de uniformidade na distribuição de energia ultrassônica e a necessidade de filtração após a extração (ANDRADE, 2011; VIERA, 2016).

#### 3.4.4 Extração com Fluido Supercrítico

Hannay e Hogarth (1879) realizaram estudos experimentais onde observaram a relação da solubilidade de substâncias químicas com a dependência simultânea da pressão e temperatura, obtendo uma importante descoberta: o uso do fluido supercrítico. Devido às dificuldades em se operar com elevadas temperaturas e pressões, o uso desse fluido era inicialmente limitado. Mas, nas últimas décadas, a aplicação envolvendo a extração com fluidos supercríticos tem crescido de forma contínua, por meio de pesquisas e atividades acadêmicas (MELECCHI, 2005; BENELLI, 2010).

A extração com fluido supercrítico vem se destacando como alternativa as técnicas de extração tradicionais de matrizes naturais. Isso pode ser justificado por apresentar diversas características, como menores impactos ambientais, melhor qualidade e segurança do produto final. Além disso, essa técnica possibilita alta seletividade na separação de compostos desejados, sem deixar resíduos tóxicos nos extratos, diminuição do tempo de extração, dispensa o uso de solventes orgânicos poluentes, excluindo a etapa de separação do solvente-extrato, e, principalmente, apresenta eficiência aliada às condições de pressão e baixa temperatura (BRUNNER, 1994; ROSSO COMIM et al., 2010; REGNAULT-ROGER et al., 2012).

As substâncias contidas nas matrizes vegetais obtidas pela extração supercrítica podem ser aplicadas a uma grande variedade de setores industriais, procedimento promissor para fins alimentício, farmacêutico e cosmético. Nos últimos anos, ocorreu um crescente interesse na obtenção de compostos bioativos de fontes naturais para o desenvolvimento de novos produtos, principalmente, produtos com apelo à conservação do meio ambiente (SERRA et al., 2010; ACOSTA, 2013).

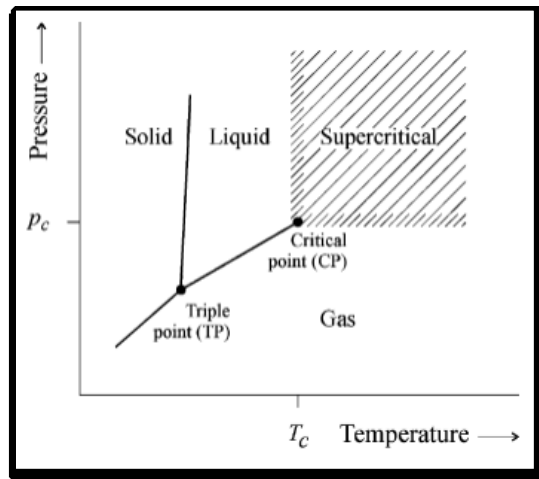
A técnica de extração com alta pressão pode ser feita em matrizes sólidas, viscosas ou líquidas. Para a realização da extração com fluido supercrítico, dois modos de operação

são necessários: a extração propriamente dita e a separação. Na primeira operação, ocorre a extração, onde o fluido supercrítico escoava através de um leito fixo constituído de partículas, solubilizando os compostos ali presentes. Na segunda, ocorre a separação da mistura soluto/solvente, onde haverá redução da pressão à pressão atmosférica, resultando na vaporização do solvente e na precipitação dos componentes extraídos (BRUNNER, 1994).

#### 3.4.4.1 Fluidos Supercríticos

Fluido supercrítico é definido como qualquer substância que se encontra acima de sua temperatura e pressão crítica. Estes valores de temperatura e pressão definem um ponto crítico, caracterizado por ser único para cada substância. A temperatura crítica ( $T_c$ ) é considerada como a temperatura máxima na qual o gás pode ser convertido em líquido por um aumento de pressão. Já a pressão crítica ( $P_c$ ), corresponde a maior pressão na qual um líquido pode ser convertido em vapor por um aumento de temperatura. Desta forma, quando a temperatura e pressão de uma substância são elevadas acima dos valores do ponto crítico, ela passa para uma condição chamada de ‘Estado Fluido Supercrítico’ (BRUNNER, 2005). A Figura 4 mostra um diagrama de fases, onde as regiões de gás, líquido, sólido e fluido supercrítico são apresentadas.

Figura 4. Diagrama de fases para uma substância.



Fonte: BRUNNER, 2005.

Sendo assim, o fluido supercrítico possui propriedades muito peculiares, adotando comportamento tanto de gases como líquidos, simultaneamente. Na Tabela 1 são apresentadas comparações entre as propriedades típicas de gases e de líquido com as propriedades do fluido supercrítico.

Tabela 1. Propriedades de fluidos no estado gasoso, líquido e supercrítico.

<b>Estado</b>	<b>Densidade (Kg.m<sup>-3</sup>)</b>	<b>Viscosidade (N.s.m<sup>-2</sup>)</b>	<b>Coefficiente de difusão (m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>)</b>
Gasoso	1 – 100	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup> – 10 <sup>-4</sup>
Fluido supercrítico	250 – 800	10 <sup>-4</sup> – 10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-8</sup> – 10 <sup>-7</sup>
Líquido	800 – 1200	10 <sup>-3</sup> – 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-9</sup> – 10 <sup>-8</sup>

Fonte: Taylor, 1996.

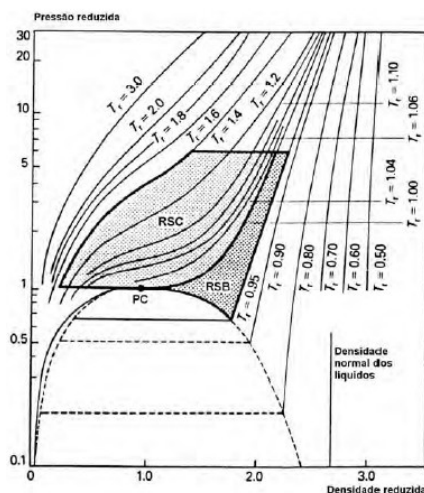
Analisando a Tabela 1, verifica-se que o fluido supercrítico apresenta alta densidade, como os líquidos, o que lhe confere um grande poder de solubilização, baixa viscosidade, semelhante à de um gás, e uma difusividade com valor maior que a dos líquidos. A combinação dessas características permite uma penetração rápida do solvente no sólido e, conseqüentemente, aumentando a eficiência da extração (BENELLI, 2010). Desta forma, todas essas características tornam os fluidos supercríticos atrativos para serem utilizados em processos de extração de solutos.

#### 3.4.4.2 Dióxido de Carbono supercrítico

O CO<sub>2</sub> supercrítico é impreterivelmente a substância mais utilizada como solvente, no que diz respeito a técnicas que envolvem o uso de fluidos supercríticos. Este solvente traz inúmeras vantagens para o processo, como ser de natureza inerte, não tóxico, não inflamável, não explosivo, baixa polaridade, baixa pressão crítica (73,8 bar), sendo facilmente atingível, e baixa temperatura crítica (31,2 °C), conduzindo a extração em temperaturas suficientemente baixas, não alterando as propriedades sensoriais e químicas dos extratos. Além de ser abundante na natureza, apresenta baixo custo e não requer um sistema adicional de remoção do solvente, possibilitando etapas de reciclagem (SARTOR, 2009; BARROSO, 2011).

A Figura 5 apresenta o gráfico da densidade reduzida *versus* pressão reduzida para o dióxido de carbono, a região supercrítica (RSC) para o dióxido de carbono, localizada acima do ponto crítico,  $P_c = 1$ , e da temperatura crítica,  $T_c = 1$ . Além disso, é possível identificar a região subcrítica (ACOSTA, 2013).

Figura 5. Densidade reduzida *versus* pressão reduzida para o dióxido de carbono puro.



Fonte: FILIPPI, 1982.

Analisando a Figura 5, observa-se que a solubilidade de extratos no fluido supercrítico é função da densidade do solvente (a) e da pressão de vapor soluto (b).

- (a) O aumento da pressão, a uma determinada temperatura, ocasiona um aumento na densidade de  $\text{CO}_2$  supercrítico (maior massa de fluido por unidade de volume), promovendo uma maior interação soluto-fluido e, conseqüentemente, a taxa de extração. Assim, o aumento na pressão operacional apresenta efeito positivo no rendimento global (BRUNNER, 1994).
- (b) O aumento da temperatura provoca uma redução na densidade do  $\text{CO}_2$  supercrítico, a uma determinada pressão, o que aumenta a difusividade do solvente e a pressão de vapor do soluto, mas diminui o seu poder de solvatação. Dependendo do soluto ser volátil ou não-volátil, isso influenciará na taxa de extração. Para um soluto não-volátil, o aumento da temperatura diminui a solubilidade do fluido supercrítico, resultando em uma menor taxa de extração. Já para um soluto volátil, a taxa de extração dependerá do fator que interferirá mais fortemente: a solubilidade no fluido supercrítico, que diminui à medida que a temperatura aumenta, ou a volatilidade, que aumenta com o aumento da temperatura (ACOSTA, 2013; LAURINTINO, 2017).

A competição entre os dois efeitos da temperatura (densidade do solvente supercrítico e pressão de vapor do soluto) e da predominância de um dos dois efeitos, a pressão constante, resultam no cruzamento das isótermas e é conhecido como fenômeno da retrogradação (ANDRADE, 2011).

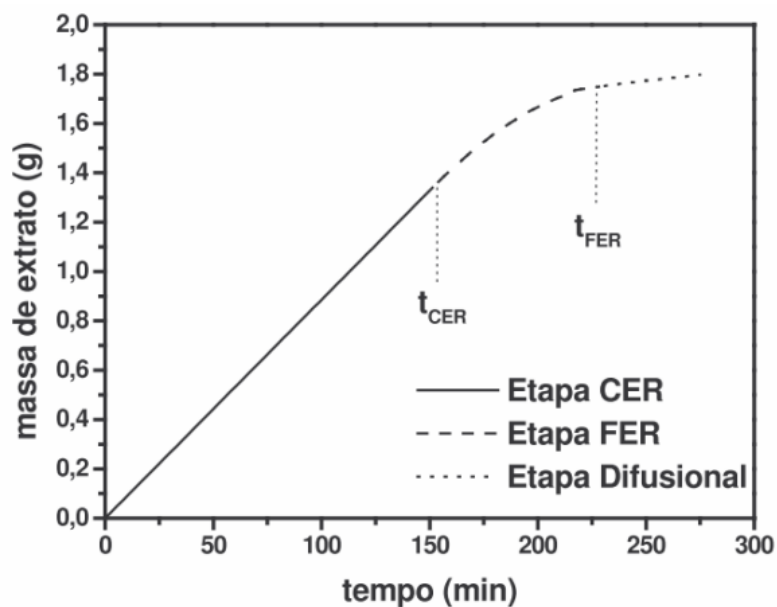


A principal desvantagem do dióxido de carbono é apresentar pouca habilidade para extrair moléculas polares, mesmo em condições de altas densidades, pois comporta-se como um solvente lipofílico (apolar). Desta forma, o uso de substâncias polares, como água e etanol, é utilizado para melhorar a solubilidade dos compostos desejados e/ou aumentar a seletividade da extração. Além disso, dependendo das características do solvente, estes podem modificar a seletividade do processo. O etanol (polar) é o solvente mais empregado, pois é considerado seguro para humanos, meio ambiente e atende as exigências legais para ser utilizado na indústria de alimentos (MOYLER, 1993; BISCAIA, 2007; PIES, 2017).

#### 3.4.4.3 Curvas de Extração

Além do tempo de extração, a representação da curva cinética em processos com fluidos supercríticos pode ser utilizada para fornecer outros parâmetros de processo, tais como: caracterização das etapas de extração supercrítica, determinação da solubilidade e modelagem da transferência de massa do sistema (ANDRADE, 2011). Normalmente, a curva de extração é apresentada como um gráfico de massa acumulada de extrato em função do tempo de extração, conforme demonstrado na Figura 6.

Figura 6. Curva típica de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico com suas três etapas: taxa de extração constante (CER), taxa de extração decrescente (FER) e taxa difusional (DC).



Fonte: Andrade, 2011.

As etapas da curva de extração indicam diferentes fases da extração e diferentes mecanismos que controlam a transferência de massa. De acordo com Brunner (1994), a curva de extração é caracterizada por três etapas distintas, como foi observado na Figura 6.

I. **Etapa com taxa constante de extração** ou *Constant Extraction Rate (CER)*:

A moagem proporciona a abertura das células do material vegetal e ocasiona o fácil contato entre o solvente e o extrato, assim, ocasionando a transferência do soluto exposto presente na superfície externa da partícula. Nesta etapa, o principal mecanismo de transferência de massa ocorre pela convecção.

II. **Etapa com taxa decrescente de extração** ou *Falling Extraction Rate (FER)*:

Ocorre a transferência do soluto da camada externa da partícula e de uma parte de dentro das partículas. A velocidade de extração é determinada por dois efeitos que ocorrem simultaneamente, o convectivo na fase fluida e o difusional na fase sólida.

III. **Etapa difusional** ou *Low Extraction Rate/Diffusion-Controlled (LER/DC)*:

Quando o soluto é esgotado na parte externa da partícula, a transferência de massa se dá apenas no soluto do interior das partículas, de modo, que a difusão se torna o mecanismo de controle.

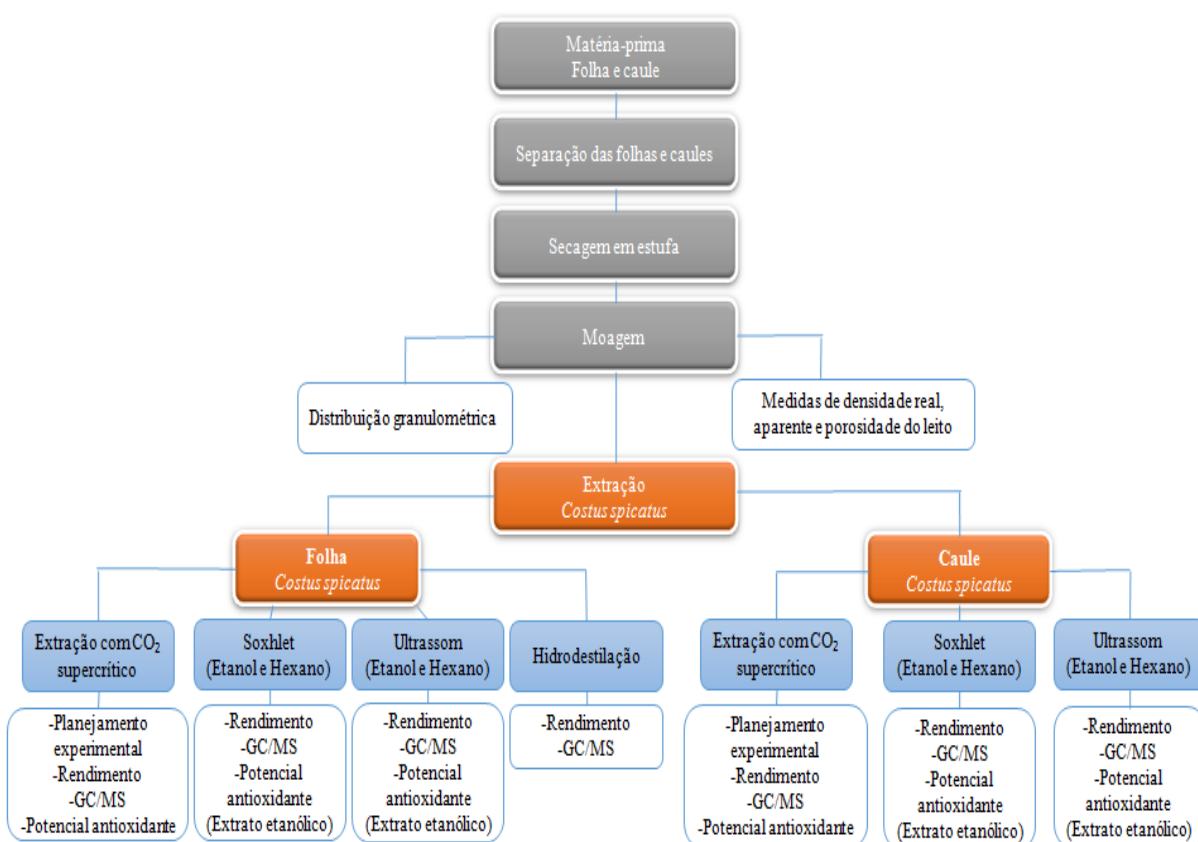
A vazão afeta a taxa de extração do soluto de fácil acesso (CER). Normalmente, uma alta vazão aumenta o rendimento de extração, por causa da maior vazão de solvente inserido no leito de extração. Porém, valores muito altos podem reduzir o rendimento, por causa do tempo insuficiente entre o solvente e o soluto (KITZBERGER, 2005; HALL, 2018).

## 4. MATERIAS E MÉTODOS

Neste capítulo, será apresentado, inicialmente, um fluxograma contemplando todas as etapas desenvolvidas no presente trabalho (Figura 7), com informações mais detalhadas sobre a obtenção da matéria-prima, equipamentos e metodologias adotadas para cada uma dessas etapas.

### 4.1 FLUXOGRAMA DO TRABALHO

Figura 7. Fluxograma das atividades desenvolvidas no presente trabalho.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

De acordo com o fluxograma acima, o presente trabalho consistiu em obter óleo essencial e o extrato das folhas de *Costus spicatus*, utilizando técnicas de baixa pressão (hidrodestilação, soxhlet e ultrassom de ponteira) e alta pressão (CO<sub>2</sub> supercrítico e adição de cossolvente, o etanol). Na hidrodestilação, a água foi utilizada como solvente, enquanto no soxhlet e ultrassom, dois solventes de diferentes polaridades foram utilizados, hexano P.A. e o álcool etílico P.A. Esses procedimentos de extração também foram realizados com o caule, exceto a hidrodestilação. Foram estudadas as dinâmicas de extração e a análise estatística,

como também, o rendimento e a caracterização do óleo/extrato obtidos de acordo com a composição química.

## 4.2 MATÉRIAS PRIMAS

As folhas e caules da *Costus spicatus* foram compradas no mês de março de 2019, de uma empresa que fica localizada em Piraquara-PR e direcionada para o Laboratório de Controle e Processos de Polimerização – LCP, no Departamento da Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina – EQA/UFSC.

A matéria prima, quando recebida em saco de rafia, conforme pode ser visualizado na Figura 2-A, foi separada em pequenas porções, acondicionada em embalagens de polietileno e posteriormente armazenada em refrigerador (6 - 10°C), onde foram mantidos até a sua utilização. Após esta etapa, as folhas foram separadas manualmente dos caules. A secagem foi realizada em estufa a 35°C, por aproximadamente 24h. Em seguida, as folhas secas foram moídas em um moedor de café (Figura 8-B). Para os caules, foi realizado uma primeira moagem no liquidificador (Figura 8-C) e posteriormente moído no moedor de café. Por fim, ambos foram acondicionados em embalagens de polietileno e mantidos sob refrigeração (6 - 10°C).

Figura 8. Saco de rafia contendo a matéria prima *in natura* (A), moedor de café (B) e o liquidificador (C).



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

### 4.2.1 Distribuição Granulométrica

A matéria prima moída, tanto as folhas, quanto os caules, foram classificadas em um agitador de peneiras vibratório vertical, com a finalidade de fracionar a matéria prima em diferentes tamanhos de partícula.

A seleção da granulometria da partícula foi obtida a partir da realização de testes preliminares. Foi empregado o sistema de peneiras da série de Tyler, com aberturas sequenciais de 35 *mesh* (500  $\mu\text{m}$ ), 45 *mesh* (355 $\mu\text{m}$ ), 60 *mesh* (250  $\mu\text{m}$ ), 70 *mesh* (212  $\mu\text{m}$ ), 80 *mesh* (180  $\mu\text{m}$ ) e fundo, onde o conjunto foi agitado por 20 minutos. A maior parte do material ficou retida na granulometria de 45 *mesh* (355 $\mu\text{m}$ ). Assim, optou-se em realizar todos os experimentos nessa fração. Após a separação granulométrica, as frações retidas em cada peneira foram acondicionadas em embalagens de polietileno, devidamente identificadas e mantidas sob refrigeração.

#### 4.2.2 Caracterização do Leito de Partículas

A densidade real ( $\rho_r$ ) da matriz vegetal seca foi realizada com a técnica de picnometria a gás Hélio pelo Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC), do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina – EQA/UFSC. A densidade foi determinada com esta metodologia, por ser considerada como uma das mais confiáveis, devido a sua acurácia e reprodutibilidade.

A densidade aparente ( $\rho_a$ ) do leito de partículas foi calculada pesando-se a massa necessária para ocupar a cápsula do extrator supercrítico de volume conhecido (10  $\text{cm}^3$ ). Depois, essa mesma massa pesada foi dividida pelo volume da cápsula, para assim, obter a densidade aparente do leito (Equação 1).

$$\rho_a \left( \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right) = \frac{m_p (\text{g})}{\text{Volume da cápsula (cm}^3)} \quad (1)$$

A porosidade total do leito ( $\epsilon$ ) foi calculada para obter a porcentagem de vazios no interior da cápsula de extração, utilizando os valores das densidades real ( $\rho_r$ ) e aparente ( $\rho_a$ ) das partículas do material vegetal, de acordo com a Equação 2.

$$\epsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (2)$$

#### 4.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

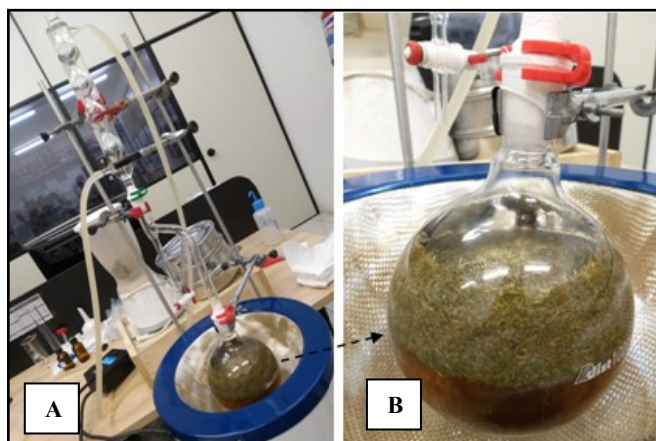
Foram estudadas técnicas de extração de baixa e alta pressão, a fim de comparação, em termos de rendimento, composição química do óleo e dos extratos, e atividade antioxidante.

O método de hidrodestilação e de alta pressão (CO<sub>2</sub> supercrítico com cossolvente) foram executados no LCP, enquanto o soxhlet e ultrassom foram realizados no LATESC. Vale ressaltar que, antes de qualquer extração realizada nas técnicas de alta e baixa pressão, a matéria prima foi submetida à secagem em estufa, por 10 minutos, com a finalidade de remover a umidade adquirida na geladeira.

#### 4.3.1 Extração por Hidrodestilação

O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação, utilizando o aparelho tipo *Clevenger*, somente nas folhas da *Costus spicatus*. A realização das extrações ocorreu seguindo a metodologia adaptada proposta por Santos et al. (2004). A Figura 9-A apresenta o sistema utilizado para extração por hidrodestilação, com destaque do aparato tipo *Clevenger*.

Figura 9. Sistema utilizado para extração por hidrodestilação (A) e balão de fundo redondo com a matriz vegetal (folhas) e o solvente (água destilada).



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

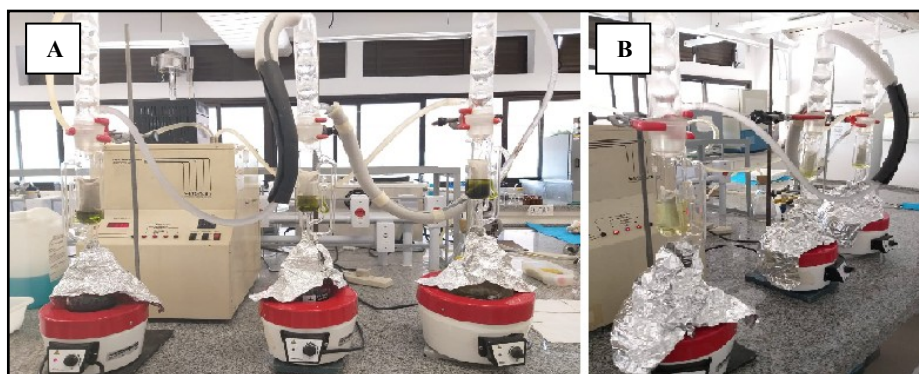
O procedimento adotado foi pesar 30 g das folhas (*Costus spicatus*) secas em uma balança analítica e, com o auxílio de um funil, transferir para um balão de vidro de fundo redondo com capacidade para 1000 mL. Em seguida, adicionou-se no balão, na proporção de 3:100 g/L de solvente, água destilada. O balão foi acoplado ao aparelho tipo *Clevenger* (constituído de um tudo graduado e tudo de retorno) e este, por sua vez, foi conectado ao condensador com circulação de água corrente, com o intuito de resfriar e proporcionar a condensação dos vapores formados. O aquecimento foi obtido com o auxílio de uma manta de aquecimento, na temperatura de ebulição do solvente (100°C). O sistema operou em um circuito fechado com tempo de duração de 5 h. Após esse tempo, realizou-se a medição da

quantidade de óleo obtido no tubo graduado e foi calculada a porcentagem de óleo em relação à matriz vegetal (folha) adicionada. O experimento foi realizado em triplicata.

#### 4.3.2 Extração por Soxhlet

A metodologia empregada foi a descrita por Santos et al. (2015). A extração via soxhlet foi realizada utilizando dois solventes de diferentes polaridades, hexano P.A. (apolar) e o álcool etílico P.A. (polar). Na Figura 10-(A) e (B) é possível observar o sistema de extração em soxhlet, composto por um extrator, acoplado na extremidade superior a um condensador, com circulação de água refrigerada, e na parte inferior, a um balão de fundo redondo com capacidade para 250 mL.

Figura 10. Aparelho para a realização da extração por soxhlet em folhas (A) e caules (B) da *Costus spicatus*.

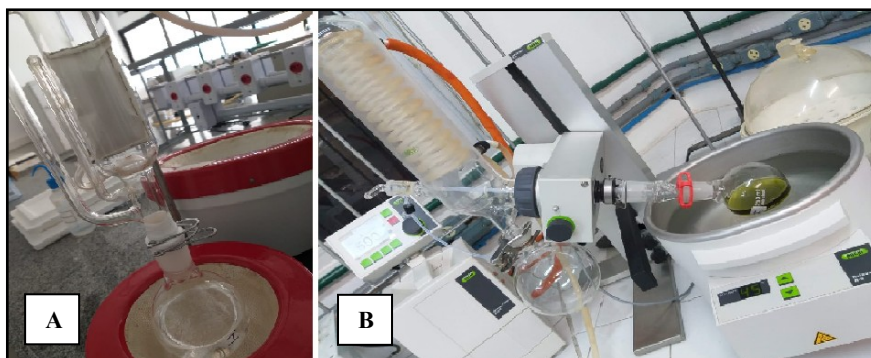


Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Para realizar a extração, pesou-se 5 g da amostra da planta e foi inserido em cartucho de papel-filtro. Posteriormente, este cartucho ficou retido dentro do aparelho extrator (Figura 11-A). Neste processo, foram utilizados 150 mL do solvente e adicionados nos balões de fundo redondo, os quais foram aquecidos por mantas de aquecimento até a sua temperatura de ebulição. Para ter maior controle da temperatura de aquecimento e evitar a dissipação de energia, foi usado papel alumínio em volta dos balões. O processo de extração teve duração de 5 h.

As extrações foram realizadas em triplicata. Após a extração, os extratos foram rotaevaporados para eliminação do solvente presente nos balões, representado na Figura 11-B, e determinação do rendimento do extrato obtido.

Figura 11. Cartucho inserido no aparelho extrator (A) e Rotaevaporador (B).



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

#### 4.3.3 Extração por Ultrassom

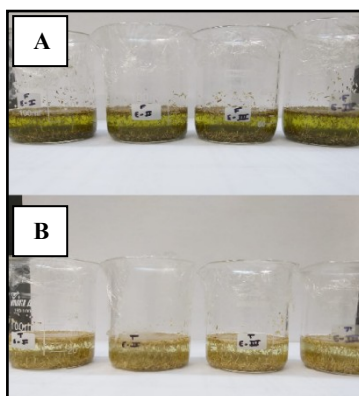
A extração via ultrassom consistiu na aplicação de ondas ultrassônicas para promover a extração de determinados compostos. Foram utilizados dois solventes com diferentes polaridades, hexano P.A. (apolar) e o álcool etílico P.A. (polar).

O equipamento utilizado foi a ultrassom assistida de ponteira, com as seguintes especificações: microponteira, potência 500 W, frequência 20 KHz e amplitude 70%. O método de extração foi realizado conforme adaptado de Luque-García e Castro, 2003.

Para a extração por ultrassom, pesou-se 1 g de amostra e transferiu para um bécker com capacidade de 100 mL. Com auxílio de uma proveta de vidro de 100 mL, adicionou-se ao bécker um volume de 30 mL do solvente (Figura 12-A e B), e este, por sua vez, foi colocado em uma caixa de isopor contendo gelo, para ser submetido as ondas de ultrassom por um tempo de 4 min. Após essa etapa, a amostra foi filtrada a vácuo, através de um kitasato e uma bomba de vácuo, e transferida para um balão de vidro. Por fim, a amostra foi submetida a rotaevaporação para eliminação do solvente. O experimento foi realizado em triplicata para a determinação do rendimento e análises posteriores.



Figura 12. Extrato etanólico para ser filtrado. Folhas (A) e caules (B).



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

#### 4.3.4 Extração Supercrítica

As extrações com dióxido de carbono em estado supercrítico foram realizadas no equipamento HPLC-SC da JASCO Inc, que fica localizado no LCP, no Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina. O equipamento apresenta configuração de extração e cromatografia supercrítica e pode ser visualizado na Figura 13.

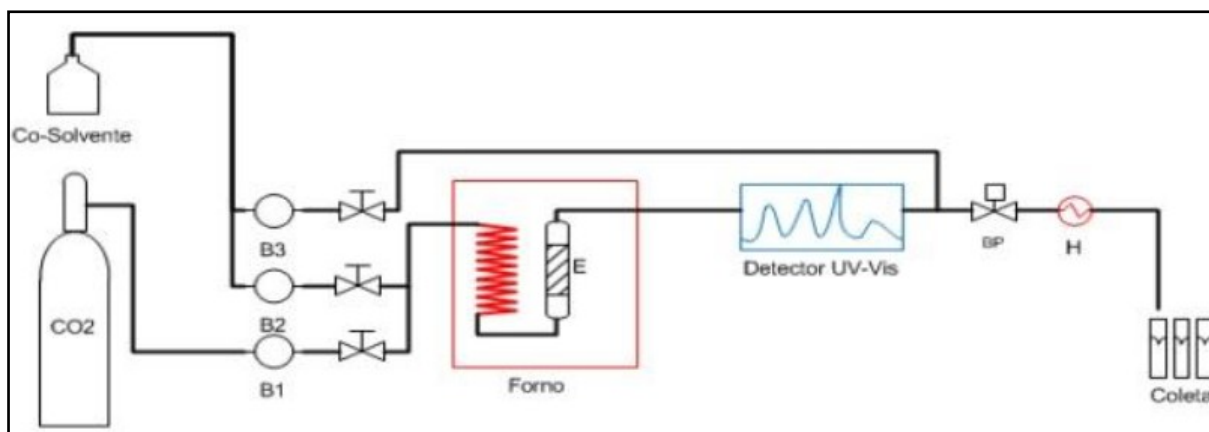
Figura 13. Unidade de extração supercrítica – HPLC-SC.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

A figura a seguir, Figura 14, apresenta o diagrama da unidade de extração supercrítica empregado no presente trabalho.

Figura 14. Diagrama da unidade de extração supercrítica – HPLC-SC.



Fonte: Arauco, 2013.

Como é possível observar na Figura 14, a unidade de extração supercrítica é constituída por três bombas de alta pressão: bomba de CO<sub>2</sub> (B1), bomba de cossolvente (B2) e bomba de eluente (B3). Também apresenta um forno de aquecimento, região onde fica localizado a cápsula de extração e que contém o material vegetal utilizado para a extração. A cápsula apresenta um volume interno de 0,010L ( $1,0 \times 10^{-6} \text{ m}^3$ ), com filtro de 10 µm na saída do extrator, evitando uma contaminação na linha com particulados sólidos. O equipamento HPLC-SC possui uma interface de comunicação LC-net II (Jasco Inc.) com um computador, onde é possível controlar as variáveis operacionais envolvidas no processo, por meio do software ChromNAV.

A técnica de extração supercrítica foi empregada em diferentes condições de pressão, temperatura e concentração de etanol como cossolvente. Os ensaios foram realizados com intuito de avaliar o rendimento global de extração, composição química e curvas de extração, resultados necessários para comparação com técnicas de baixa pressão e futuras aplicações.

Foram realizados testes preliminares com o intuito de definir o tempo de extração e condições de operação. Para isso, avaliou-se o rendimento global do extrato e o emprego de cossolvente, onde foram estudadas três condições de processo: I - pressão de 140bar, temperatura de 40°C e 10% de cossolvente, II - 140bar, 60°C e 10% CS e III - 140bar, 60°C e 0% CS, todas com o mesmo tempo de extração de 120 min.

#### 4.3.4.1 Planejamento Experimental

Foram aplicados dois planejamentos fatoriais completos, um para folhas e outro para caules da *Costus spicatus*. Os planejamentos foram realizados com intuito de avaliar a

influência da pressão, temperatura e concentração de etanol como cossolvente no rendimento de extração.

O planejamento experimental aplicado no presente trabalho foi o Delineamento Composto Central Rotacional, DCCR, que corresponde a um planejamento fatorial completo, com três fatores, seis pontos axiais e repetições no ponto central. Os valores das variáveis e os níveis utilizados no DCCR, para folhas e caules, podem ser visualizados na tabela a seguir, Tabela 2.

Tabela 2. Valores utilizados no Delineamento Composto Central Rotacional para três fatores, tanto para folha, quanto para caule.

<i>Variáveis</i>	<i>Código</i>	<i>-α</i>	<i>-1</i>	<i>0</i>	<i>+1</i>	<i>+α</i>
Pressão (bar)	P(bar)	80	110	140	170	200
Temperatura (°C)	T(°C)	36	40	50	60	64
Concentração de cossolvente (%)	CS(%)	0	5	10	15	20

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Nos dois planejamentos experimentais, foram empregados os valores  $\pm \alpha$ ,  $\pm 1$  e 0. O valor de  $\alpha$  foi calculado a partir da seguinte equação, onde n corresponde ao número de fatores utilizados:

$$\alpha = 2^{\frac{n}{4}} = 2^{\frac{3}{4}} = 1,68$$

A Tabela 3 e 4 apresentam todos os ensaios empregados nos planejamentos experimentais para folhas e caules (*Costus spicatus*), respectivamente. A partir desse planejamento, é possível identificar o número total de experimentos e as condições dos fatores para cada ensaio.

Tabela 3. Variáveis codificadas e reais do Delineamento Composto Central Rotacional para três variáveis (pressão, temperatura e concentração de cossolvente) em folhas (*Costus spicatus*).

Ensaio	P <sub>cod</sub> (bar)	T <sub>cod</sub> (°C)	CS <sub>cod</sub> (%)	P <sub>real</sub> (bar)	T <sub>real</sub> (°C)	CS <sub>real</sub> (%)
1	-1	-1	-1	110	40	5
2	1	-1	-1	170	40	5
3	-1	1	-1	110	60	5
4	1	1	-1	170	60	5
5	-1	-1	1	110	40	15
6	1	-1	1	170	40	15
7	-1	1	1	110	60	15
8	1	1	1	170	60	15
9	-1,68	0	0	80	50	10
10	1,68	0	0	200	50	10
11	0	-1,68	0	140	36	10
12	0	1,68	0	140	64	10
13	0	0	-1,68	140	50	0
14	0	0	1,68	140	50	20
15	0	0	0	140	50	10
16	0	0	0	140	50	10
17	0	0	0	140	50	10
18	0	0	0	140	50	10
19	0	0	0	140	50	10

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 4. Variáveis codificadas e reais do Delineamento Composto Central Rotacional para três variáveis (pressão, temperatura e concentração de cossolvente) em caules (*Costus spicatus*).

Ensaio	P <sub>cod</sub> (bar)	T <sub>cod</sub> (°C)	CS <sub>cod</sub> (%)	P <sub>real</sub> (bar)	T <sub>real</sub> (°C)	CS <sub>real</sub> (%)
1	-1	-1	-1	110	40	5
2	1	-1	-1	170	40	5
3	-1	1	-1	110	60	5
4	1	1	-1	170	60	5
5	-1	-1	1	110	40	15
6	1	-1	1	170	40	15
7	-1	1	1	110	60	15
8	1	1	1	170	60	15
9	-1,68	0	0	80	50	10
10	1,68	0	0	200	50	10
11	0	-1,68	0	140	36	10
12	0	1,68	0	140	64	10
13	0	0	-1,68	140	50	0
14	0	0	1,68	140	50	20
15	0	0	0	140	50	10
16	0	0	0	140	50	10
17	0	0	0	140	50	10

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

No planejamento experimental aplicado para as folhas, observa-se que foram realizados um total de 19 experimentos. Já para os caules, foram realizados 17 experimentos. Em todos os ensaios foi aplicado uma vazão de 3 mL/min e um tempo de extração de 120 min, conforme definidos nos resultados dos experimentos preliminares.

Com relação a massa do material vegetal, foi utilizada uma massa aproximada de 1,45g para folhas e 1,38g para caules. Ao finalizar os ensaios, os extratos foram direcionados para uma estufa a vácuo, submetidos a uma temperatura de 40 °C e com tempo de duração variável, de acordo com a completa evaporação do solvente. Em seguida, os frascos foram pesados em uma balança analítica até peso constante e armazenados em frascos âmbar na geladeira, para análises posteriores. Esse procedimento foi realizado em todos os extratos,

com exceção do extrato obtido no ensaio de 0% de cossolvente, onde o extrato já foi pesado e armazenado sob refrigeração.

O cálculo do rendimento global dos extratos obtidos pela extração com CO<sub>2</sub> supercrítico foi executado conforme Equação 3, onde foi realizada a razão da massa do extrato obtida ( $M_{extrato}$ ) pela massa do material vegetal ( $M_{vegetal}$ ) utilizada para formar o leito de extração.

$$Rendimento (\%) = \frac{M_{extrato}}{M_{vegetal}} \times 100 \quad (3)$$

Além dos experimentos realizados nos planejamentos experimentais, foram realizados ensaios adicionais para a elaboração de gráficos alternativos aos gráficos obtidos pelo *Software Statistic*, buscando uma melhor representação dos comportamentos das variáveis estudadas (pressão, temperatura e concentração de cossolvente). A quantidade e as condições aplicadas nos ensaios extras podem ser visualizadas na tabela a seguir, Tabela 5.

Tabela 5. Experimentos adicionais.

<i>Ensaios adicionais</i>	<i>Pressão (bar)</i>	<i>Temperatura (°C)</i>	<i>Cossolvente (%)</i>
1	110	40	5
2	140	40	5
3	170	40	5
4	110	50	5
5	140	50	5
6	170	50	5
7	110	60	5
8	140	60	5
9	170	60	5

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Todos os ensaios adicionais foram realizados em duplicata. No entanto, em ensaios que apresentaram condições iguais aos aplicados no planejamento experimental, este resultado foi considerado e apenas um experimento foi realizado para que a média fosse obtida. Vale salientar que esses ensaios extras foram realizados para folhas e caules no presente trabalho.

O *software Statistic*, versão 10, foi utilizado para a realização da análise estatística dos dados obtidos no Delineamento Composto Central Rotacional, tanto para as folhas,

quanto para os caules da *Costus spicatus*. A análise estática permitiu a obtenção de diferentes gráficos e tabelas, garantindo um melhor entendimento sobre o comportamento das variáveis estudadas. Além disso, em alguns resultados foi realizado o teste de Tukey, com um nível de 95% de confiança.

#### 4.3.4.2 Curvas de Extração

As curvas de extração para as folhas e caules da *Costus spicatus* foram determinadas a partir da massa de extrato acumulado em função do tempo de extração. Para os experimentos da dinâmica de extração, foram empregados 20 tubos de ensaios com tampa, previamente pesados em balança analítica, para realizar a coleta em intervalos de tempos pré estabelecidos, entre 0 e 180 min. Em seguida, os extratos foram direcionados para uma estufa a vácuo, sob uma temperatura de 40°C, para evaporação do solvente e submetidos a pesagem em uma balança analítica até peso constante. Posteriormente, foi realizado o cálculo das massas acumuladas e rendimento para cada ponto de coleta.

A determinação das condições operacionais para a elaboração das curvas de extração foi baseada nos resultados do Delineamento Composto Central Rotacional e das análises cromatográficas. A condição de 140bar, 50°C e 20%, com vazão de 3 mL/min, foram aplicadas para as folhas e caules da *Costus spicatus*. Além disso, com intuito de analisar qualitativamente os mecanismos envolvidos nas extrações, foram realizados testes extras variando a concentração de cossolvente e vazão empregada no processo. Assim, foram estudadas as condições de 140bar, 50°C e 3 mL/min, variando a concentração de cossolvente (10 e 20% de etanol), e a 140bar, 50°C e 10%, variando a vazão do processo (3 e 7 mL/min).

Somente o experimento realizado com a vazão 3 mL/min na condição de 140bar, 50°C e 20% CS foi realizado em triplicata. O teste adicional realizado em 3 e 7 mL/min na condição de 140bar, 50°C e 10% foi de natureza qualitativa.

#### 4.3.5 Caracterização Química do Extratos obtidos por *Costus spicatus*

A caracterização química dos extratos obtidos pelo Delineamento Composto Central Rotacional para folhas e caules da *Costus spicatus* foi realizada por cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massa (GC-MS). As análises foram realizadas na Central de Análise do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, na Universidade Federal de Santa Catarina.

Foi utilizado o equipamento Agilent GC 7890A acoplado a um detector MS Agilent 5975C. A coluna capilar, HP5MS (Agilent) de sílica fundida (30 m de comprimento x 250 µm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme, composta de 5% de fenilmetilpolisiloxano), foi conectada a um detector operando em modo EI a 70 eV. O gás hélio foi adotado como gás de arraste a uma vazão de 1 mL/min. As temperaturas de injeção e interface foram de 250 °C e 250 °C, respectivamente, com uma relação de divisão de 1:50. O volume de injeção foi de 1 µL com o auto amostrador Agilent GC Sampler 80 e o programa de temperatura do forno consistiu em subir gradualmente de 40 °C durante 2 min, depois de 3 °C/min para 145 °C, depois de 10 °C/min para 250 °C durante 10 min. Os compostos foram identificados comparando seus espectros de massa com os fornecidos pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST, 2011).

Os extratos obtidos no Delineamento Composto Central Rotacional para extração supercrítica e os extratos obtidos nas técnicas de baixa pressão, em diferentes solventes, foram submetidos a análise de GC-MS, tanto para as folhas, quanto para os caules da *Costus spicatus*.

#### 4.3.5.1 Atividade Antioxidante pelo Método DPPH

O procedimento empregado para a realização do teste de atividade antioxidante foi o método DPPH e baseou-se na metodologia proposta por Lima, Ferreira e Block, 2019. Esse método constitui em uma reação do composto em uma solução etanólica de DPPH na concentração de 0,3 mM e com concentrações decrescentes (3; 1,5; 0,75; 0,38; 0,19; 0,09; 0,05 e 0,02 mg/mL) do extrato (folhas e caules), durante um tempo de 30 min. A reação ocorreu a temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Após a reação, a leitura das absorbâncias em espectrofotômetro foi realizada no LAMEB.

O percentual de inibição das amostras foi calculado a partir da Equação 4. A concentração das amostras necessárias para reagir com 50% do radical DPPH (EC<sub>50</sub>) foi calculada pela análise de regressão linear. Vale salientar que, quanto maior atividade antioxidante da amostra testada, menor é a EC<sub>50</sub>.

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



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentadas e discutidas as caracterizações do leito de partículas (densidades reais, densidades aparentes, porosidades e granulometrias) utilizadas nos experimentos, tanto para folhas, quanto para caules da *Costus spicatus*. Posteriormente, serão apresentados e discutidos os resultados referentes ao rendimento e composição química dos extratos obtidos pelas técnicas de baixa pressão e de alta pressão. Os extratos supercríticos foram discutidos com relação aos efeitos de pressão, temperatura e concentração de cossolvente. Em seguida, as técnicas de baixa e alta pressão foram comparadas entre si, onde foi avaliada a atividade antioxidante dos extratos e suas possíveis aplicações.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS

O leito de partículas fornece informações importantes quando se emprega técnicas de extração. A caracterização do leito proporciona uma melhor compreensão da cinética de extração e dos fenômenos de transferência de massa, onde é possível estudar os parâmetros envolvidos no processo e obter curvas que representam os fenômenos por meio de uma modelagem matemática.

No presente trabalho, as técnicas de extração foram empregadas para folhas e caules da *Costus spicatus*. Deste modo, valores de densidade real, densidade aparente, porosidade do leito e diâmetro da partícula, onde este último foi indicado pela análise de granulometria, foram obtidos para espécie estudada e podem ser verificados na Tabela 6.

Tabela 6. Parâmetros do leito fixo – Folhas e Caules (*Costus spicatus*).

<b>Parâmetros</b>	<b>Folhas</b>	<b>Caules</b>
Densidade real ( $\rho_r$ , Kg/m <sup>3</sup> )	1,2394 ( $\pm 0,0022$ )	1,2154 ( $\pm 0,0038$ )
Densidade aparente ( $\rho_a$ , Kg/m <sup>3</sup> )	0,1563 ( $\pm 0,05$ )	0,1388 ( $\pm 0,04$ )
Porosidade do leito ( $\epsilon$ )	0,874	0,886
Diâmetro da partícula (mm)	0,355	0,355

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Os dados obtidos da caracterização do leito de partículas para as folhas e caules da *Costus spicatus* não estão disponíveis na literatura e podem ser empregados em trabalhos futuros. Como pode ser observada na Tabela 6, as porosidades dos leitos dos dois tipos de material vegetal são próximas, aproximadamente 87,4% e 88,6%, respectivamente. Esse resultado está relacionado aos espaços vazios presentes no leito, ou seja, corresponde aos

espaços entre as partículas que serão utilizadas pelo CO<sub>2</sub> em estado supercrítico para fluir ao longo do leito de extração.

Outro parâmetro que apresenta forte influência na garantia da eficiência de técnicas de extração é o diâmetro da partícula. Sabe-se que, quanto maior a partícula, menor é a área de contato entre o sólido e o solvente, conseqüentemente, menor a transferência de massa e o rendimento da extração. Porém, é necessário utilizar um tamanho de partícula ideal, pois, partículas muito pequenas podem criar caminhos preferenciais e prejudicarem a eficiência de extração. De acordo com Oliveira (2010), as partículas precisam apresentar um diâmetro médio entre 0,25 e 2 mm.

Vale salientar que a análise de umidade não foi realizada para caracterizar as partículas de folhas e os caules da *Costus spicatus*, pois, para todas as técnicas de extração empregadas, as amostras foram submetidas ao processo de secagem em estufa.

## 5.2 PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO

### 5.2.1 Extração por Hidrodestilação

A extração por hidrodestilação foi realizada para analisar a composição química presente no óleo essencial das folhas da *Costus spicatus*. A média do rendimento do óleo essencial, realizada em triplicata, foi de 0,01% ±0,62.

Geralmente, o rendimento de óleos essenciais é relativamente baixo para diversas espécies. Na literatura, não foram encontrados muitos relatos da obtenção de óleo essencial das folhas da *Costus spicatus*, por meio da hidrodestilação ou arraste a vapor, técnicas básicas para a obtenção de compostos de baixos pesos moleculares. Santos (2019) e Fernandes et al. (2003) buscaram obter óleo essencial das folhas e partes aéreas e rizomas da *Costus spicatus*, respectivamente, usando aparelho tipo Clevenger e não produziram quantidades detectáveis de óleo essencial.

Santos (2011), avaliando o perfil fitoquímico do óleo essencial de outra espécie da mesma família, *Costus spiralis*, apresentou um rendimento de 0,19%, indicando o baixo rendimento de óleo essencial para espécies pertencentes à família Costaceae.

Na Tabela 7 é possível verificar os compostos identificados no óleo essencial de *Costus spicatus*. No CG-MS foram identificados no total 25 compostos. Dentre esses, os que apresentaram picos de maior área relativa foram: Ácido palmítico (38,51%), Fitol (13,42%), Ácido palmítico, éster etílico (3,93%), Fluoranteno (2,59%) e Hexahidrofarnesil acetona (2,20%).

Tabela 7. Composição química do óleo essencial das **folhas** - *Costus spicatus* obtido pela técnica de hidrodestilação.

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	Ácido palmítico	38,5093
2	Fitol	13,4195
3	Ácido palmítico, éster etílico	3,9325
4	Fluoranteno	2,5885
5	Hexahidrofarnesil acetona	2,2033
6	Pireno	2,1345
7	Ácido linolênico, éster etílico	1,9680
8	Linoleato de etila	1,6525
9	Heptacosane	1,1270
10	11,13-Dimethyl-12-tetradecen-1-ol acetate	1,0906
11	Ácido linolênico, éster metílico	0,8851
12	Eicosano	0,7502
13	Ciclotetracosane	0,6094
14	Octadecano	0,5688
15	Isofitol	0,5684
16	Fenantreno	0,5596
17	Ácido linoléico, éster metílico	0,4738
18	Ácido eicosanóico	0,4571
19	2-Metilpireno	0,4563
20	Benzo [def] fluoreno	0,2661
21	2-Methyl-Z,Z-3,13-octadecadienol	0,2617
22	Ácido oléico	0,1843
23	4-Methylphenanthrene	0,1454
24	1-Metilpireno	0,1091
25	Adamantano-1-carboxilato de etilo	0,0884

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Sabe-se que o rendimento e a composição química dos óleos essenciais podem variar em função de diferentes fatores inerentes ao material folhoso, como fatores relativos ao clima e ao solo, como temperatura de colheita, estação do ano, regime de chuvas, tempo de exposição e intensidade de luz, entre outros (SIMÕES et al., 2010).

### 5.2.2 Extração usando Solventes

A Tabela 8 contém a média do rendimento mássico do extrato de folhas e caules – *Costus spicatus*, para cada técnica e solvente utilizado. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Tabela 8. Rendimento global (R) das extrações de folhas e caules da *Costus spicatus* a baixa pressão, utilizando dois solventes de diferentes polaridades.

PARTE ÁEREA – <i>Costus spicatus</i>		
	Folhas	Caules
Método	R (%) <sup>(3)</sup>	R (%) <sup>(3)</sup>
Soxhlet – Hexano <sup>(1)</sup>	1,23 <sup>c</sup> ± 0,23	0,60 <sup>d</sup> ± 0,11
Soxhlet – Etanol <sup>(2)</sup>	6,17 <sup>a</sup> ± 0,79	5,06 <sup>a</sup> ± 0,76
Ultrassom – Hexano <sup>(1)</sup>	3,54 <sup>b</sup> ± 0,13	1,19 <sup>c</sup> ± 0,23
Ultrassom – Etanol <sup>(2)</sup>	3,86 <sup>b</sup> ± 0,13	2,37 <sup>b</sup> ± 0,11

<sup>(1)</sup> Índice de polaridade do solvente hexano – IP = 0

<sup>(2)</sup> Índice de polaridade do solvente etanol – IP = 5,2

<sup>(3)</sup> Média ± desvio padrão; Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para o teste de Tukey.

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

De acordo com a Tabela 8, empregando o solvente etanol, o rendimento para a extração em soxhlet e ultrassom para as folhas foi 6,17% e 3,86%, respectivamente. Já para os caules, o rendimento para a extração em soxhlet e ultrassom foi 5,06% e 2,37%, respectivamente. Deste modo, usando o solvente de maior polaridade, a técnica soxhlet apresentou um rendimento maior e estatisticamente diferente em relação a técnica de ultrassom. Esse comportamento foi observado tanto para as folhas, quanto para os caules.

Esses resultados corroboram com dados da literatura, onde já foi constatado maiores rendimentos no emprego de técnicas soxhlet, quando comparadas com a ultrassom. Diversos fatores podem contribuir para tais resultados, como a presença de recirculação do solvente e temperatura de operação no processo. Além disso, as interações entre solvente e matéria prima podem ter contribuído para uma melhor solubilização dos compostos em soxhlet (MEZZOMO et al., 2010).

Com relação ao uso do solvente de menor índice de polaridade, hexano, ao analisar a Tabela 8, é possível observar que a técnica ultrassom apresentou um maior rendimento e estatisticamente diferente em relação a técnica soxhlet. Para as folhas, o rendimento de extração em soxhlet e ultrassom foi 1,23% e 3,54%, respectivamente. Já para os caules, o rendimento para a extração em soxhlet e ultrassom foi 0,60% e 1,19%, respectivamente.

De acordo com Guindani (2014) e Benelli (2010), a técnica de ultrassom aumenta a polaridade do sistema por meio da cavitação, proporcionando um melhor rendimento na extração. Essa técnica faz uso de ondas sonoras, vibrações mecânicas, onde as ondas se propagam, proporcionando o afastamento e a aproximação das moléculas repetidas vezes,

aumentando a permeabilidade do solvente nas paredes celulares. Deste modo, o uso de solventes com baixo índice de polaridade para folhas e caules da *Costus spicatus* favoreceram o uso de técnicas de extração em ultrassom.

Avaliando a polaridade dos solventes, os extratos de folhas e caules da *Costus spicatus* apresentaram rendimentos mais elevados no solvente com maior índice de polaridade, sugerindo que os compostos extraíveis dessas matrizes vegetais são mais polares, que apolares, já que o hexano é apolar e o etanol é polar. Esses resultados corroboram com Pedrosa (2017), que ao empregar a técnica de maceração em diferentes solventes, obteve rendimentos maiores em solvente polares - extrato hexânico – 1,13%, acetato de etila – 6,76% e etanólico – 5,18%. Em relação à seletividade dos extratos de folhas e caules da *Costus spicatus*, ao contrário do rendimento, o solvente de menor índice de polaridade (hexano) identificou maior quantidade de compostos extraídos comparado ao solvente polar (etanol), independente da técnica empregada.

Vale salientar que em todas as técnicas empregadas, hidrodestilação, soxhlet, ultrassom e ESC, obtiveram uma baixa quantidade dos compostos identificados para a *Costus spicatus* (folhas e caules). Isso pode estar relacionado com a presença de ceras no extrato/óleo de alto peso molecular, que podem não ter sido identificadas pela coluna e/ou não tenham sido detectados, por apresentarem um tempo de retenção maior do que a faixa estudada. Esse comportamento também foi observado em Corrêa (2016), quando realizou a extração de composto de inflorescências da *Musa paradisiaca* L. utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico e propano como solventes.

As composições químicas dos extratos das folhas da *Costus spicatus* obtidos por soxhlet com hexano e etanol estão apresentados nas Tabelas 9 e 10, respectivamente. Foram identificados 32 compostos com o solvente hexano e 19 compostos com o solvente etanol. Com o hexano, os compostos que apresentaram os picos de maior área relativa foram: 1-etil-2-metilbenzeno (14,79%), Hemimellitene (10,27%) e Friedelin (5,06%). Já com o solvente etanol, os compostos de maior área de pico foram: Ácido linolênico (13,22%), Ácido palmítico (11,39%) e Ácido decanóico, éster etílico (3,10%).

Tabela 9. Composição química do extrato das folhas (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Soxhlet (Hexano).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	1-etil-2-metilbenzeno	14,7876
2	Hemimellitene	10,2710
3	Friedelin	5,0616
4	Dodecano	4,8622
5	Undecane	4,4421
6	1-Eicosanol	4,0885
7	Tridecane	3,6343
8	Durene	3,6285
9	1,2,4-trimetilbenzeno	2,6816
10	Tetradecano	2,5805
11	Nonane	3,1480
12	Tridecano, 7-metil-	1,9953
13	Ácido oxálico, éster decil-2-etil-hexílico	1,8164
14	Pentadecano	1,7123
15	Tetralin	1,6759
16	Undecano, 2,6-dimetil-	1,4317
17	Ácido linolênico	1,3138
18	1-pentadecino	1,1305
19	Phytan	1,1005
20	Farnesan	1,0800
21	Trans-decalina, 2-metil	0,9708
22	6-Metiltetralina	0,9368
23	5-Metiltetralina	0,9298
24	o-Cimeno	0,9059
25	Eicosane	0,8892
26	1,4-dimetiltetralina	0,7433
27	Dodecano, 2-metil-	0,6421
28	Hexadecano	0,5773
29	Ácido palmítico	0,5493
30	2-metiltridecano	0,4465
31	Indan, 1,1,3-trimetil-	0,4323
32	2-metilnaftaleno	0,3870

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 10. Composição química do extrato das folhas (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Soxhlet (Etanol).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	Ácido linolênico	13,2156
2	Ácido palmítico	11,3850
3	Ácido decanóico, éster etílico	7,4543
4	Fitol	4,0715
5	Ácido dodecanóico, éster etílico	3,1008
6	Ácido linoléico	3,0958
7	Ácido octadecanóico	2,3466
8	Ácido octanóico, éster etílico	2,1733
9	Coumaran	1,1832
10	1,1-dietoxi-3-metilbutano	1,1598
11	Ácido decanóico	1,0851
12	Propano, 1,1,3-trietóxi-	1,0199
13	dl- $\alpha$ -tocoferol	1,0145
14	Ácido palmítico, éster etílico	0,9208
15	2-metoxi-4-vinilfenol	0,8507
16	Dodecano	0,7381
17	9-decenoato de etilo	0,5298
18	Tetradecano	0,4556
19	Nerolidol	0,3189

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Já as composições químicas dos extratos dos caules da *Costus spicatus* obtidos por soxhlet com hexano e etanol estão apresentados nas Tabelas 11 e 12, respectivamente. Foram identificados 24 compostos com o solvente hexano e 10 compostos com o solvente etanol. Com o hexano, os compostos que apresentaram os picos de maior área relativa foram: Hemimellitene (14,53%), 3-etiltolueno (13,65%) e Dodecano (5,48%). Com o solvente etanol, os compostos de maior área de pico foram: Ácido palmítico (14,74%), Coumaran (12,11%) e Coniferol (8,33%).

Tabela 11. Composição química do extrato de caules (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Soxhlet (Hexano).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	Hemimellitene	14,5340
2	3-etiltolueno	13,6545
3	Dodecano	5,4833
4	Undecano	4,6199
5	Ciclooctanona	4,5062
6	Tridecano	4,0977
7	Durene	4,0398
8	Nonane	3,1929
9	2-etiltolueno	3,1163
10	Tetradecano	2,6659
11	7-metiltridecano	2,2543
12	5-metiltetralina	2,1372
13	4-metildecano	2,0450
14	4-propiltolueno	1,9219
15	Pentadecano	1,9210
16	Tetralin	1,8727
17	Hexadecano	1,8626
18	2,6-dimetilundecano	1,6143
19	Farnesan	1,2091
20	1,4-dimetiltetralina	1,0636
21	o-cimeno	0,9792
22	2-metildodecano	0,7239
23	2-metiltridecano	0,5162
24	2-metilnaftaleno	0,4612

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 12. Composição química do extrato de caules (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Soxhlet (Etanol).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	Ácido palmítico	14,7374
2	Coumaran	12,1136
3	Coniferol	8,3307
4	Ácido linolênico	6,4446
5	Ácido linoléico	4,2926
6	Ácido esteárico	3,1843
7	4-formilfenol	0,8906
8	Chalcone, 4-metoxi-	0,6502
9	Fenol, 4-etenil-2-metoxi-	0,6430
10	Ácido decanóico, éster etílico	0,4645

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.



Os compostos identificados nos extratos de folhas e caules da *Costus spicatus* obtidos por ultrassom com hexano e etanol estão apresentadas nas tabelas 13, 14, 15 e 16 a seguir.

Tabela 13. Composição química do extrato de folhas (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Ultrassom (Hexano).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	Hemimellitene	10,6418
2	3-etiltolueno	9,4219
3	Friedelin	4,5169
4	Dodecano	4,1164
5	1-Eicosanol	3,4501
6	Undecane	3,4123
7	Durene	3,0871
8	Tridecane	3,0671
9	Tetradecano	2,2898
10	2-etiltolueno	2,2237
11	Ácido linolênico	2,1000
12	Acetilcitrate de tributilo	2,0548
13	3-metilnonano	1,7437
14	Hexadecano	1,5576
15	Tetralina	1,5513
16	5-metiltetralina	1,5364
17	Pentadecano	1,5055
18	2,6-dimetilundecano	1,2582
19	2-metil-p-etiltolueno	1,1644
20	4-metildecano	1,0209
21	1,1,3-trimetilindano	0,9971
22	Farnesan	0,9800
23	Ácido palmítico	0,9447
24	2,6-dimetilnaftaleno	0,8985
25	p-cimeno	0,8575
26	Eicosane	0,8157
27	Nonacosane	0,7345
28	1-metilnaftaleno	0,6919
29	1,4-dimetiltetralina	0,6807
30	Octadecano	0,6310
31	Ácido linoléico	0,5718
32	2-metildodecano	0,5665
33	3,5-dietiltolueno	0,5354
34	Decalin	0,5296
35	2-metiltridecano	0,4492
36	2-fenil-2-penteno	0,4287
37	8-β(H)-Drimane	0,4254

38	2,7-dimetilnaftaleno	0,4238
39	2-metilnaftaleno	0,4009
40	3-metiltetradecano	0,4002
41	1-pentadeceno	0,2522
42	4-metiltetradecano	0,2285
43	2,6,10-trimetilpentadecano	0,2248
44	2,3,6-trimetilnaftaleno	0,1869
45	Heptadecano	0,1864

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 14. Composição química do extrato de folhas (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Ultrassom (Etanol).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	Acetilcitrate de tributilo	34,3032
2	Ácido linolênico	11,7070
3	Ácido palmítico	4,7359
4	Fitol	3,5187
5	Ácido linoléico	2,4169

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 15. Composição química do extrato de caules (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Ultrassom (Hexano).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	2-etiltolueno	15,1426
2	Hemimellitene	10,8012
3	Dodecano	5,0063
4	Dodecano, 4-ciclo-hexil-	4,6713
5	Undecane	4,1538
6	Durene	3,8088
7	Tridecane	3,7717
8	Tetradecano	2,7994
9	Mesitileno	2,7971
10	2,6-dimetiloctano	2,0947
11	5-metiltetralina	1,9998
12	Tetralin	1,9396
13	Hexadecano	1,8570
14	Pentadecano	1,7763
15	Ácido cítrico, éster tributílico	1,5245
16	2,6-dimetilundecano	1,4721
17	4-metildecano	1,2063
18	Farnesan	1,1872
19	o-cimeno	0,8866
20	1,4-dimetiltetralina	0,8092
21	1-metilnaftaleno	0,8014
22	Decalin	0,6650

23	2-metildodecano	0,6541
24	Spiro (4,5) decano	0,6231
25	1,1,3-trimetilindano	0,5599
26	1-fenil-2-buteno	0,5565
27	10-metileicosana	0,5189
28	1-butil-2-propilciclopentano	0,4946
29	2-metilnaftaleno	0,4575
30	2,3-dimetilnaftaleno	0,4452
31	2,7-dimetilnaftaleno	0,4277
32	1-ciclopentilnonano	0,3920
33	Ácido palmítico, éster etílico	0,3433
34	Linoleato de etila	0,3144

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 16. Composição química do extrato de caules (*Costus spicatus*) obtido pela técnica de Ultrassom (Etanol).

<i>Nº</i>	<i>Composto</i>	<i>Área relativa (%)</i>
1	Ácido palmítico	8,7188
2	Acetilcitrato de tributilo	5,2487
3	Ácido linoléico	4,3684

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Para as folhas da *Costus spicatus*, foram identificados 45 compostos com o solvente hexano e 5 compostos com o solvente etanol. Os compostos majoritários do extrato hexânico foram: Hemimellitene (10,64%), 3-etiltolueno (9,42%) e Friedelin (4,52%). Para o extrato etanólico, os compostos majoritários foram: Acetilcitrato de tributilo (34,30%), Ácido linolênico (11,71%) e Ácido palmítico (4,74%).

Com relação aos extratos dos caules da *Costus spicatus*, foram identificados 34 compostos com o solvente hexano e 3 compostos com o solvente etanol. Os compostos majoritários do extrato hexânico foram: 2-etiltolueno (15,14%), Hemimellitene (10,80%) e Dodecano (5,01%). Para o extrato etanólico, os compostos majoritários foram: Ácido palmítico (8,72%), Acetilcitrato de tributilo (5,25%) e Ácido linoleico (4,37%).

Com intuito de uma melhor visualização dos compostos majoritários dos extratos das folhas e caules da *Costus spicatus* obtidos por técnicas de extração soxhlet e ultrassom, usando solventes hexano e etanol, a Tabela 17 foi elaborada e pode ser visualizada a seguir.

Tabela 17. Compostos majoritários dos extratos hexânicos e etanólicos das folhas e caules da *Costus spicatus* obtidos por soxhlet e ultrassom.

<i>Técnica/Solvente</i>	<i>Folhas<sup>(1)</sup></i>	<i>Caules<sup>(1)</sup></i>
Soxhlet/Hexano	2-etiltolueno	Hemimellitene

	Hemimellitene Friedelin	3-etiltolueno Dodecano
Ultrassom/Hexano	Hemimellitene 3-etiltolueno Friedelin	2-etiltolueno Hemimellitene Dodecano
Soxhlet/Etanol	A. linolênico <sup>(2)</sup> A. palmítico <sup>(2)</sup> A. decanoico, éster etílico <sup>(2)</sup>	A. palmítico <sup>(2)</sup> Coumaran Coniferol
Ultrassom/Etanol	A. T. <sup>(3)</sup> A. linolênico <sup>(2)</sup> A. palmítico <sup>(2)</sup>	A. palmítico <sup>(2)</sup> AT <sup>(3)</sup> Ac. Linoleico <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Compostos estão descritos em ordem decrescente em relação a área relativa ao pico

<sup>(2)</sup> A. = Ácido

<sup>(3)</sup> AT – Acetilcitrato de tributilo

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

A partir da Tabela 17, é possível observar que os extratos hexânicos das folhas da *Costus spicatus* apresentaram a Hemimellitene e Friedelin entre os seus compostos majoritários, independentemente da técnica empregada. O composto Hemimellitene também foi encontrado entre os compostos majoritários dos extratos obtidos nos caules.

Com relação ao solvente etanol, o ácido linolênico e o ácido palmítico foram encontrados nos extratos das folhas, tanto no soxhlet, quanto no ultrassom. O Ácido palmítico também foi encontrado entre os compostos majoritários dos extratos do caule da *Costus spicatus*.

Zhao e Zhang (2013) realizaram a extração de folhas de *Moringa oleifera* usando extração com fluido supercrítico e o método convencional soxhlet, com solvente hexano. Pode-se observar que, dentre os 42 compostos identificados, o 2-etiltolueno, 3-etiltolueno e hemimellitene também se fizeram presentes neste trabalho, ao utilizar a técnica soxhlet com hexano em folha e caule.

Ganesan e Sivamani (2015) realizaram análise fitoquímica do extrato etanólico de folhas de *Costus spicatus* pela técnica soxhlet. Foram 14 compostos identificados pelo método GC-MS, 1,2-Ethanediol, monoacetate (2,79%), 1-Tetradecanol (0,09%), (-)-Elemal, 1,3,11(13)-trine-12-ol (0,31%), (+)-beta-costol (0,33%), 4,7,10,13,16,19-Docosahexacnoic acid (0,57%), methyl ester (5,15%), Naphtho[1,2-6]furan-3-one (1,27%), 2,3,3a,4,5,5a,6,7,9a,9b-decahydro-3,5a-9-trimethyl-7,9a-peroxy (0,39%), Eremanthin (93,44%), 5-(ethynyl)nona-1,8-dien-5-ol (0,19%), Benzeneacetic acid (0,10%), Alpha-bergamotene (0,38%), 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester (2,55%) e Isolongifolene, 4,5-dehydro- (3,68%). Embora, os autores tenham utilizado a mesma espécie de planta que neste trabalho, ocorreu uma variação na composição, provavelmente, ocasionada por fatores

climáticos e regionais. Além disso, os autores usaram um tempo de extração diferente e maior quando comparado com o empregado neste trabalho, 48h e 4h, respectivamente.

Diversos fatores podem influenciar na síntese de metabólitos secundários, como sazonalidade, disponibilidade de água, temperatura, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica e dentro outros, que alteram os constituintes presentes no tecido vegetal (SILVA, 2013).

De acordo com Soares et al. (2016), ao fazerem um estudo fitoquímico da *Costus spicatus*, observaram que as folhas apresentaram compostos dos grupos taninos, saponinas, heterosídeos, cianogênicos, ácidos voláteis, fenóis, catequinas, flavononas e alcalóides. Com relação ao caule, os autores relataram a presença de grupos taninos, saponinas, heterosídeos, cianogênicos, ácidos voláteis, fenóis, leucoantocianidinas, flavononas e alcalóides.

Diante dos resultados obtidos nas técnicas de baixa pressão em diferentes solventes, o etanol apresentou altos rendimentos, tanto na técnica soxhlet, quanto no ultrassom, indicando ser um solvente adequado para ser utilizado como cossolvente na técnica de alta pressão, extração com CO<sub>2</sub> em estado supercrítico.

### 5.3 EXTRAÇÃO COM CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO

#### 5.3.1 Teste Preliminar e Análise do Perfil do Extrato

Inicialmente, realizou-se testes preliminares de extração com o intuito de definir tempo de extração e condições de operação. Foi avaliado o rendimento global do extrato e o emprego de com e sem cossolvente em três condições de processo: primeira condição, pressão 140bar, temperatura 40°C e 10% de cossolvente; segunda condição, 140bar, 60°C e 10% de cossolvente; e terceira condição, 140bar/60°C/0% CS, todas com o tempo de extração de 120 min.

A análise dos resultados dos testes preliminares permitiu as seguintes conclusões:

- O percentual de rendimento na condição sem adição de cossolvente (140 bar/60°C/0%CS) foi de 0,48%, porém, ao adicionar 10% de cossolvente, ocorreu um aumento no rendimento para 2,04%;
- Foi possível observar que o aumento da temperatura de 40°C para 60°C, na mesma pressão (140bar) e 10% de cossolvente, favoreceu a seletividade dos compostos extraídos;

- Na análise por CG-MS, a condição de 140bar/40°C/10%CS apresentou em sua composição química os seguintes compostos: friedelin, ácido linolênico, ácido palmítico, ácido linoléico, fitol e dentre outros compostos.

Na literatura, foi possível observar as atividades biológicas dos principais compostos obtidos por meio da extração supercrítica, em análise por GC-MS, e foi constatado que a friedelin apresenta ação antiulcerogênica, o ácido linolênico diminui o índice de doenças cardiovasculares e o ácido palmítico contém atividade antioxidante e dentre outras propriedades (ANDRADE et al., 2008; DANDEKAR et al., 2015; CORRÊA, 2018).

Cabe destacar que neste trabalho é relatada pela primeira vez a extração da *Costus spicatus* pela técnica de CO<sub>2</sub> supercrítico e a composição química do seu extrato. Então, ficou estabelecida a utilização desta espécie de planta para extração com técnicas de baixa e alta pressão. A sua escolha também foi definida pelos extratos das folhas apresentarem atividade medicinal comprovada e ser de grande relevância, conforme foi constatado na literatura.

Ficou estabelecido a realização do planejamento experimental em folhas e caules (*Costus spicatus*) com CO<sub>2</sub> supercrítico e etanol como cossolvente, devido ao percentual de rendimento ser baixo na condição sem adição de cossolvente. O tempo de extração foi definido em 120 min. Além disso, observou-se que com adição de cossolvente nas folhas da *Costus spicatus*, o rendimento se encontra conforme o esperado, comparando com matérias primas da mesma espécie e gênero, em método de extração de baixa pressão (Quadro 1).

Quadro 1. Percentual de rendimento encontrado na literatura.

Material Vegetal	Parte	Tipo de extração	Rendimento%	Referência
<i>Costus spicatus</i>	Folhas	Supercrítica CO <sub>2</sub> (140bar/60°C/10%CS)	2,04	Autor, 2020
		Supercrítica CO <sub>2</sub> (140bar/60°C/0%CS)	0,48	
<i>Costus spicatus</i>	Caule	Hexano (Maceração)	1,13	Pedrosa, 2017
		Acetato de etila	6,76	
		Álcool etílico	5,18	
<i>Costus spicatus</i>	Ramos	Acetona (Maceração)	0,07	Uliana, Silva e Fronza, 2015
		Etanol	0,19	
		Metanol	0,41	
	Folhas	Acetona (Maceração)	0,15	
		Etanol	0,29	
		Metanol	0,33	
<i>Costus discolor</i> Rosc.	Rizoma e parte	Diclorometano	0,14	Habsah et al, 2000
		Metano	0,38	

<i>Costus megalobracteata</i> <i>K. Schum.</i>	da raiz	Diclorometano	0,13
		Metano	0,14
<i>Costus spiralis</i> <i>Rosc.</i>		Diclorometano	0,05
		Metano	0,13
<i>Costus villosissimus</i> <i>Jacq.</i>		Diclorometano	0,03
		Metano	0,09

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

### 5.3.2 Extração com CO<sub>2</sub> Supercrítico

#### 5.3.2.1 Rendimento global da Extração Supercrítica

O planejamento de Delineamento Composto Central Rotacional foi realizado com as condições de pressão (bar), temperatura (°C) e concentração de cossolvente (%) definidas. No total foram realizados 19 ensaios para o extrato das folhas com CO<sub>2</sub> supercrítico e para os caules foi 17 ensaios. A Tabela 18 apresenta os resultados obtidos a partir desses ensaios, com os seus respectivos rendimentos (%).

Tabela 18. Rendimento obtido a partir do planejamento experimental completo para a extração supercrítica das folhas e caules (*Costus spicatus*).

<b>Ensaio</b>	<b>PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL</b>			<b>COSTUS SPICATUS</b>	
	<b>Condições de processo</b>			<b>Folhas</b>	<b>Caules</b>
	P (bar)	T (°C)	CS(%)	R (%)	R (%)
1	110	40	5	1,053	0,437
2	110	40	15	2,352	1,060
3	110	60	5	1,446	0,421
4	110	60	15	2,577	1,162
5	170	40	5	1,478	0,555
6	170	40	15	2,536	0,824
7	170	60	5	1,838	0,521
8	170	60	15	3,875	1,422
9	80	50	10	1,973	0,807
10	200	50	10	3,355	1,326
11	140	36	10	2,090	0,621
12	140	64	10	2,093	0,829
13	140	50	0	0,722	0,308
14	140	50	20	4,117	1,692
15	140	50	10	2,024	0,788
16	140	50	10	2,386	0,830
17	140	50	10	2,371	0,867
18	140	50	10	2,459	-
19	140	50	10	2,499	-

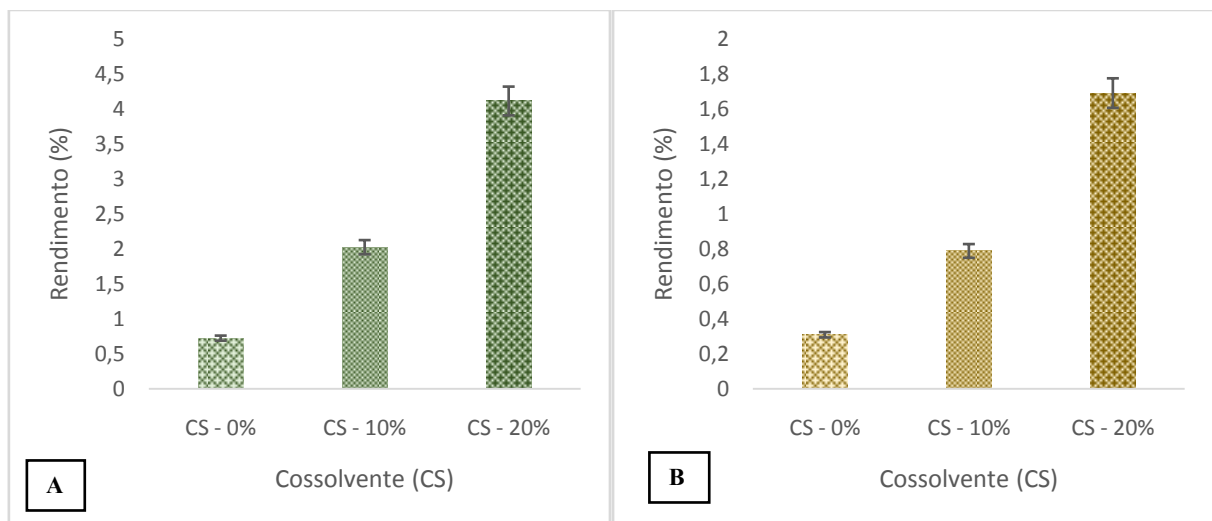
P – Pressão; T – Temperatura; CS – Cossolvente; R – Rendimento.

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

De acordo com a Tabela 18, é possível observar que os extratos de folhas e caules da *Costus spicatus* apresentaram o maior rendimento na condição de 140bar, 50°C e 20%. Os menores rendimentos foram obtidos nestas mesmas condições de pressão (140bar) e temperatura (50°C), porém, sem adição de cossolvente (0%), para ambos os extratos. Na literatura não foram encontrados em gênero e espécie rendimentos de extração supercrítica para comparação.

O efeito do cossolvente nos rendimentos dos extratos das folhas e caules, dentro das condições estudadas, pode ser visualizado na Figura 15. Os resultados demonstraram que na pressão 140 bar, temperatura 50°C e, variando a porcentagem de cossolvente, 0%, 10% e 20%, ocorreu um aumento no rendimento com o aumento de cossolvente, de 0,722, 2,024 e 4,117% para as folhas e 0,308, 0,788 e 1,692% para os caules, respectivamente.

Figura 15. Efeito da concentração do cossolvente no rendimento do extrato supercrítico de folhas (A) e caules (B) da *Costus spicatus*, na pressão 140 bar e temperatura 50°C.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Nota-se que as condições de pressão e temperatura estudadas levaram a um rendimento aumentado com a adição de EtOH, tanto para os extratos das folhas, quanto para os caules da *Costus spicatus*. Este aumento foi mais evidente para os extratos das folhas, que na condição de 20% resultou em 4,117%, enquanto para os caules foi de 1,692%.

Este resultado corrobora com Frohlich et al. (2018), que observou um aumento de rendimento do extrato de folhas de cravo da Índia com adição de cossolvente etanol, na proporção de 15, 20 e 25%, submetidos a extração supercrítica com CO<sub>2</sub>, 220bar e 40°C. Outros trabalhos também observaram este mesmo comportamento. Marangoni (2011), quando

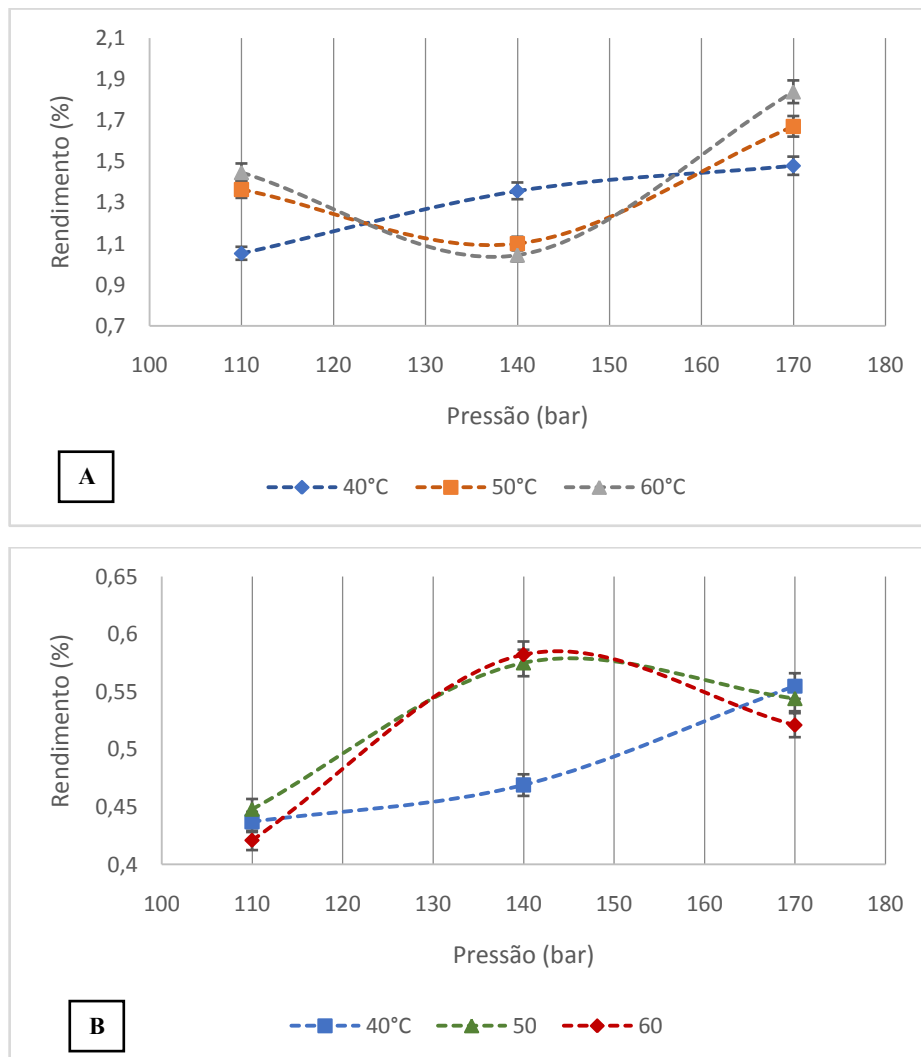


obteve extratos supercríticos com dióxido de carbono de raízes de *Derris elliptica*, Wang et al. (2001), quando obteve extratos supercríticos de raízes de ginseng, e Pies (2017), quando usaram a casca de jabuticaba para extraírem seus compostos em condições supercríticas.

Esse comportamento indicou que, para a extração de certas classes de compostos, como os polares (fenólicos e flavonóides), é necessário adicionar um cossolvente ao CO<sub>2</sub> para aumentar as interações físicas dipolo/dipolo, dipolo/dipolo induzido e dipolo induzido/dipolo induzido, aumentando o poder de solvatação do CO<sub>2</sub> e ocasionando aumento no rendimento de extração (BISCAIA, 2007; PIES, 2017).

Na Figura 16 a seguir, é possível observar as isotermas de rendimento de extração supercrítica para as folhas e caules (*Costus spicatus*), na temperatura de 40°C, 50 °C e 60°C.

Figura 16. Isotermas de rendimento de extração supercrítica para folhas (A) e caules (B) (*Costus spicatus*), com adição de 5% de cossolvente no processo.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Com relação as isotermas das folhas (A), é possível observar que, na condição isobárica de 110 e 170bar, o aumento da temperatura favoreceu o aumento no rendimento, logo, o efeito dominante no processo foi a pressão de vapor do soluto. Já na extração isobárica em 140 bar, foi observado que o aumento da temperatura de 40, 50 e 60°C diminuiu o rendimento. Assim, a massa específica do CO<sub>2</sub> supercrítico teve efeito dominante e reduziu o rendimento. Esta oposição de efeitos causa a inversão das isotermas de rendimento, conhecido como fenômeno de retrogradação.

A competição entre os dois efeitos da temperatura no rendimento de extração, a pressão constante, resultaram no cruzamento das isotermas nas pressões de 124bar e 160 bar, nas temperaturas de 40 e 50°C.

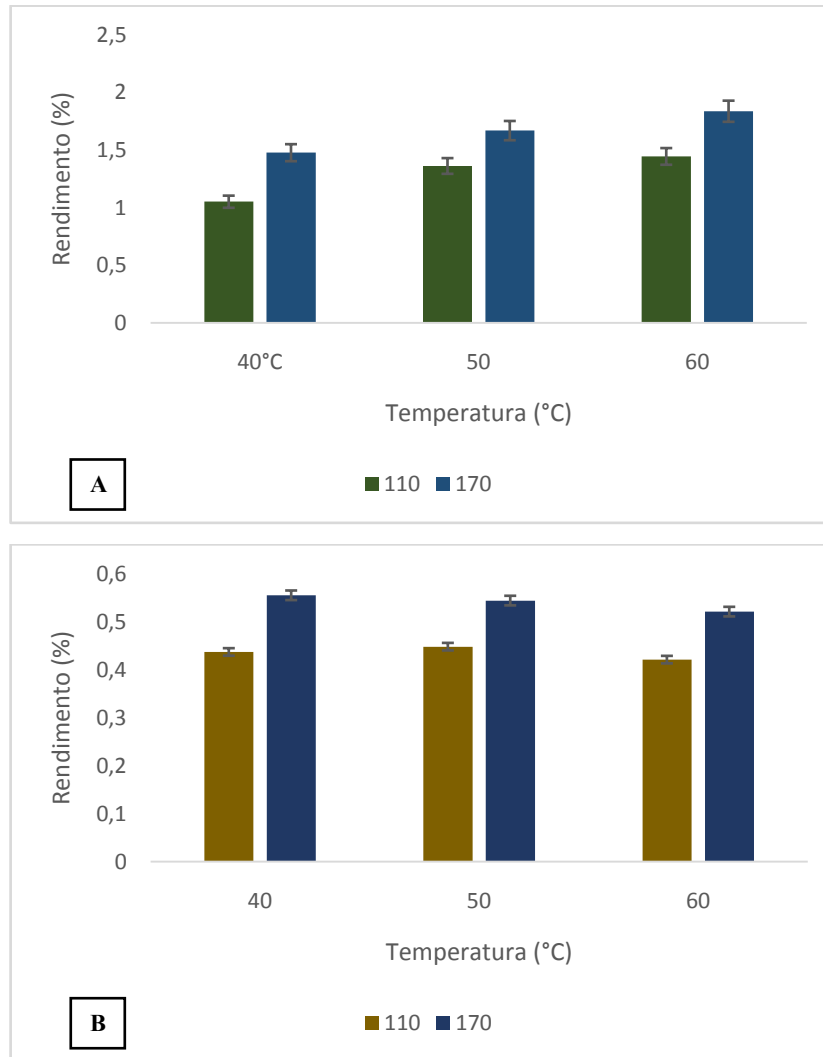
Ainda analisando os efeitos da temperatura na Figura 16, com relação as isotermas para o caule (B), observa-se que duas regiões de inversão aconteceram nas isotermas de 40 e 60°C e duas também aconteceram nas isotermas de 50 e 60°C. A primeira inversão, isotermas de 40 e 60°C, aconteceu na pressão de 114bar, e a segunda, na 164bar. Abaixo da pressão de 114bar, o aumento da temperatura de 40°C para 60°C, exibiu uma redução no rendimento, logo, o efeito dominante foi a densidade do solvente supercrítico. Após essa pressão e antes da pressão de 164bar, a pressão de vapor do soluto apresentou efeito dominante, ocasionando aumento no rendimento. Logo após a pressão de 164bar, ocorreu uma redução no rendimento com o aumento da temperatura, onde tal comportamento deve-se ao efeito dominante da densidade do solvente supercrítico, que diminuiu sua capacidade de solvatação. Este mesmo comportamento aconteceu nas isotermas de 50 e 60°C, porém, as inversões foram nas pressões de 130bar e 152bar.

Andrade (2011) obteve a região de inversão das isotermas entre 150 e 200 bar para a extração supercrítica da casca de café, estudando pressões de 100, 200 e 300bar e temperaturas de 40, 50 e 60°C. Neste trabalho, o autor também observou o comportamento da redução do rendimento com o incremento da temperatura, em uma pressão constante. Já Costa (2015) verificou que as pressões de inversão para folhas de *Vernonia amygdalina Delile*, foram nas proximidades de 165bar a 219bar, região onde a solubilidade diminuiu com o aumento da temperatura.

A Figura 17 apresenta o efeito da pressão e temperatura em relação ao rendimento no extrato supercrítico das folhas e caules (*Costus spicatus*). Observa-se que o rendimento aumentou com o aumento da pressão, nas condições isotérmicas empregadas (efeito dominante – densidade do CO<sub>2</sub> supercrítico). Esse comportamento também foi verificado com

relação a temperatura, onde o rendimento aumentou com o incremento da temperatura aplicada (efeito dominante – pressão de vapor dos compostos).

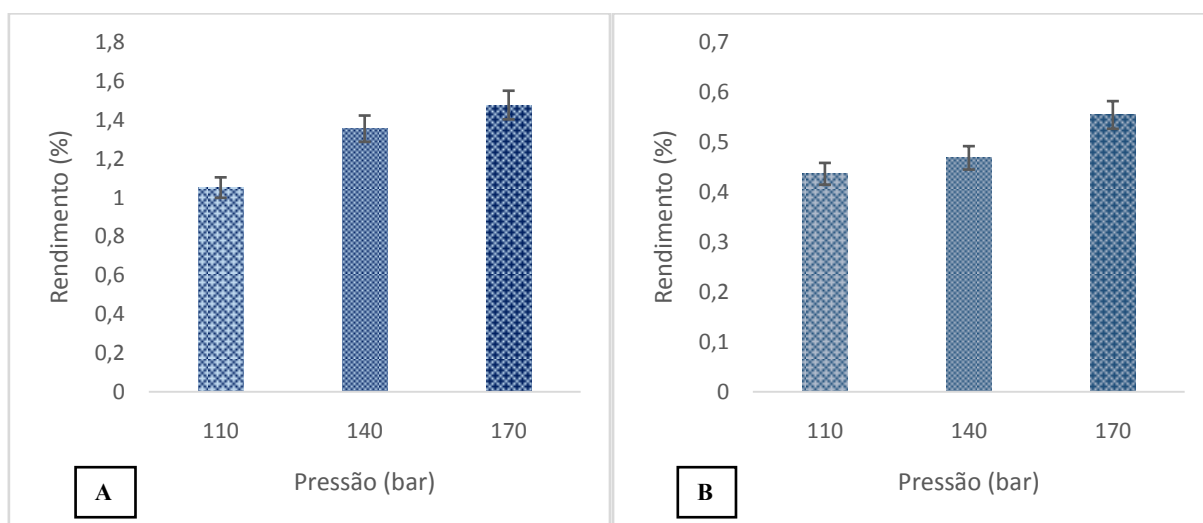
Figura 17. Efeito da pressão e temperatura sobre o rendimento do extrato supercrítico das folhas e caules (*Costus spicatus*), com adição de 5% de cossolvente no processo.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

A condição de pressão também apresentou um efeito sobre o rendimento supercrítico das folhas e caules (*Costus spicatus*), na condição isotérmica de 40°C e 5% de cossolvente, conforme a Figura 18. Os resultados demonstram que em uma mesma temperatura, o rendimento de extração aumentou com o aumento da pressão.

Figura 18. Efeito da pressão sobre o rendimento do extrato supercrítico das folhas e caules (*Costus spicatus*), com adição de 5% de cossolvente no processo e temperatura 40 °C.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Esse comportamento do aumento de rendimento é atribuído ao aumento da densidade (e, conseqüentemente, aumento do poder de solvatação do CO<sub>2</sub>), condutividade térmica e a viscosidade do CO<sub>2</sub>. Desta forma, o efeito da densidade do solvente supercrítico se mostrou mais efetivo do que a pressão de vapor do soluto. Além disso, outro fator que pode ter contribuído em termos de maiores rendimento, é o fato de que altas pressões podem causar rupturas na matriz da planta e favorecer a liberação do soluto no interior da partícula (BRUNNER, 1994; PIES, 2017; CITADIN, 2018; HALL, 2018).

Resultados similares no que tange a condições isotérmicas foi observado em Laurintino (2017), que avaliou o efeito da densidade e capacidade de solvatação do CO<sub>2</sub> com o aumento da pressão em extratos supercríticos de *B. graveolense* em estudos realizado por Santos (2012) de extratos de sementes de pitanga.

### 5.3.2.2 Análise Estatística

A análise estatística foi aplicada aos dados do rendimento global do extrato supercrítico da *Costus spicatus*. Os valores dos efeitos e os índices estatísticos obtidos para as folhas e caules podem ser verificados nas Tabelas 19 e 20, respectivamente.

Tabela 19. Coeficientes de regressão para a resposta rendimento global de extração supercrítica para folha (*Costus spicatus*).

Fatores <sup>(1)</sup>	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t (4)	P	-95%	+95%
Média	<b>2,3489</b>	<b>0,0843</b>	<b>27,8701</b>	<b>0,00001</b>	<b>2,1148</b>	<b>2,5829</b>
(1) P (L)	<b>0,3164</b>	<b>0,0471</b>	<b>6,7162</b>	<b>0,00256</b>	<b>0,1856</b>	<b>0,4473</b>
P (Q)	0,0621	0,0380	1,6356	0,17723	-0,0433	0,1675
(2) T (L)	<b>0,1947</b>	<b>0,0546</b>	<b>3,5674</b>	<b>0,02343</b>	<b>0,0432</b>	<b>0,3463</b>
T (Q)	<b>-0,2008</b>	<b>0,0674</b>	<b>-2,9780</b>	<b>0,04082</b>	<b>-0,3881</b>	<b>-0,0136</b>
(3) CS (L)	<b>0,7697</b>	<b>0,0471</b>	<b>16,3362</b>	<b>0,00008</b>	<b>0,6389</b>	<b>0,9005</b>
CS (Q)	0,0010	0,0380	0,0254	0,9809	-0,1044	0,1064
1L x 2L	0,1351	0,0667	2,0280	0,1125	-0,0499	0,3201
1L x 3L	0,0831	0,0667	1,2475	0,2803	-0,1019	0,2681
2L x 3L	0,1014	0,0677	1,5214	0,2028	-0,0836	0,2864

<sup>(1)</sup> P – Pressão (bar); T – Temperatura (°C); CS – Cossolvente (%)

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 20. Coeficientes de regressão para a resposta rendimento global de extração supercrítica para caule (*Costus spicatus*).

Fatores <sup>(1)</sup>	Coeficientes De regressão	Erro padrão	t (2)	P	-95%	+95%
Média	<b>0,8292</b>	<b>0,0228</b>	<b>36,3362</b>	<b>0,0008</b>	<b>0,7310</b>	<b>0,9274</b>
(1) P (L)	<b>0,0800</b>	<b>0,0099</b>	<b>8,0959</b>	<b>0,0149</b>	<b>0,0038</b>	<b>0,1225</b>
P (Q)	<b>0,0517</b>	<b>0,0087</b>	<b>5,9161</b>	<b>0,0274</b>	<b>0,0141</b>	<b>0,0893</b>
(2) T (L)	<b>0,0790</b>	<b>0,0114</b>	<b>6,8970</b>	<b>0,0204</b>	<b>0,0297</b>	<b>0,1282</b>
T (Q)	<b>-0,0850</b>	<b>0,0159</b>	<b>-5,3419</b>	<b>0,0333</b>	<b>-0,1535</b>	<b>-0,0165</b>
(3) CS (L)	<b>0,3314</b>	<b>0,0010</b>	<b>33,5346</b>	<b>0,0009</b>	<b>0,2889</b>	<b>0,3739</b>
CS (Q)	0,0351	0,0087	4,0129	0,0569	-0,0025	0,0726
1L x 2L	0,0598	0,0140	4,2756	0,0506	-0,0004	0,1199
1L x 3L	-0,0243	0,0140	-1,7353	0,2248	-0,0844	0,0359
2L x 3L	<b>0,0938</b>	<b>0,0140</b>	<b>6,7086</b>	<b>0,0215</b>	<b>0,0336</b>	<b>0,1539</b>

<sup>(1)</sup> P – Pressão (bar); T – Temperatura (°C); CS – Cossolvente (%)

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

A Tabela 19 apresenta os coeficientes de regressão da equação preditiva do rendimento dos extratos das folhas da *Costus spicatus* em função das variáveis independentes (pressão, temperatura e concentração de cossolvente). Verifica-se que o coeficiente linear da pressão, os coeficientes linear e quadrático da temperatura e o coeficiente linear do cossolvente foram estatisticamente significativos, ao nível de significância (5%), p menor que 0,05. Os coeficientes quadráticos da pressão e cossolvente e as interações entre os fatores não apresentaram coeficientes significativos nos modelos.

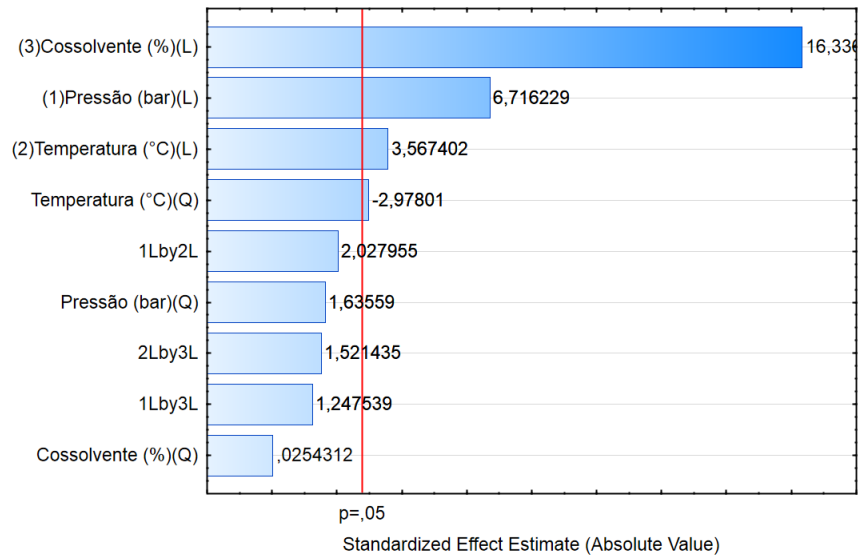
Já a Tabela 20 fornece os valores obtidos para os coeficientes de regressão da equação preditiva do rendimento dos extratos dos caules em função das variáveis

independentes (pressão, temperatura e concentração de cossolvente). Constatou-se que os coeficientes linear e quadrático da pressão e temperatura, o coeficiente linear do cossolvente e a interação temperatura/cossolvente foram estatisticamente significativos, ao nível de significância (5%). O coeficiente quadrático do cossolvente e as demais interações não foram significativos.

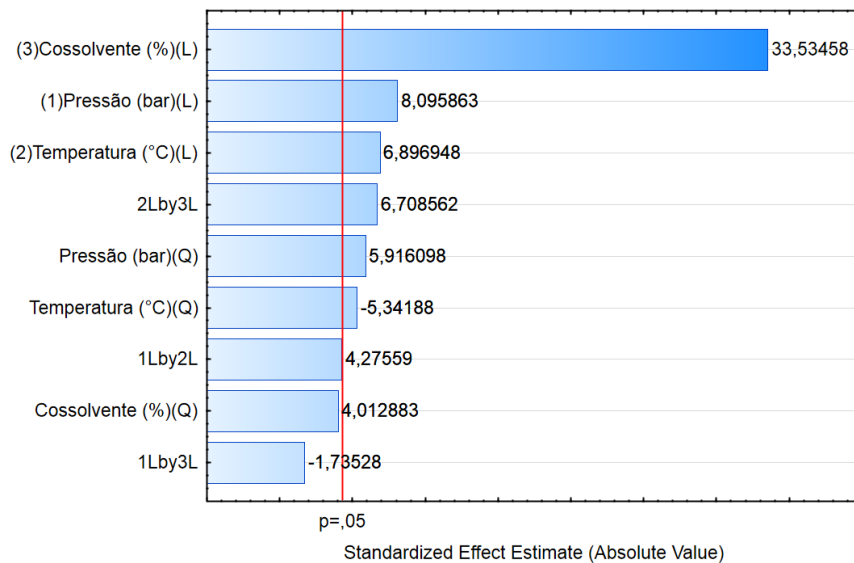
Com relação aos fatores que apresentaram efeitos significativos nos extratos das folhas e caules da *Costus spicatus*, relatados anteriormente, esses resultados podem ser confirmados nos gráficos de pareto, apresentados na Figura 19. Os efeitos dos fatores que influenciaram no rendimento significativamente ultrapassam a linha de corte (linha vermelha), ou seja, os fatores exibiram um p valor menor que 0,05.

Sabe-se que, quando um efeito é positivo no gráfico de pareto, este efeito indica que a variável ou a combinação de variáveis apresenta um incremento positivo no valor do rendimento. Já quando o efeito é negativo, o comportamento é inverso. Na Figura 19, tanto para as extrações com CO<sub>2</sub> supercrítico das folhas, quanto para os caules, o fator temperatura apresentou um efeito positivo no termo linear e um efeito negativo no termo quadrático.

Figura 19. Gráfico de pareto. (A) Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de folhas (*Costus spicatus*). (B) Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de caules (*Costus spicatus*).



(A)



(B)

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

A Análise de Variância (ANOVA) para folhas e caules da *Costus spicatus* pode ser observada nas Tabelas 21 e 22, respectivamente. A ANOVA indicou uma porcentagem de variação explicada de 94,40% para os rendimentos obtidos para as folhas e 95,74% para os caules. O coeficiente de determinação,  $R^2$ , é um parâmetro de grande importância na análise estatística de um conjunto de dados experimentais, pois é um indicador da qualidade do ajuste dos dados a uma reta de regressão.

Tabela 21. ANOVA – Análise de Variância para os dados obtidos na extração supercrítica para folhas (*Costus spicatus*).

Fatores <sup>(1)</sup>	SQ <sup>(2)</sup>	GL <sup>(3)</sup>	QM <sup>(4)</sup>	Fcal	P	R <sup>2(5)</sup>
(1) P (L)	<b>1,6021</b>	<b>1</b>	<b>1,6021</b>	<b>45,1077</b>	<b>0,0026</b>	0,9440
P (Q)	0,0950	1	0,0950	2,6752	0,1773	
(2) T (L)	<b>0,4520</b>	<b>1</b>	<b>0,4520</b>	<b>12,7264</b>	<b>0,0234</b>	
T (Q)	<b>0,3150</b>	<b>1</b>	<b>0,3150</b>	<b>8,8686</b>	<b>0,0408</b>	
(3) CS (L)	<b>9,4787</b>	<b>1</b>	<b>9,4787</b>	<b>266,8726</b>	<b>0,00008</b>	
CS (Q)	0,00002	1	0,00002	0,0006	0,9809	
1L x 2L	0,1461	1	0,1461	4,1126	0,1125	
1L x 3L	0,0553	1	0,0553	1,5564	0,2803	
2L x 3L	0,0822	1	0,0822	2,3148	0,2028	
Falta de ajuste	0,5876	5	0,1175	3,3089	0,1348	
Erro puro	0,1421	4	0,0355			
Total SQ	13,0302	18				

<sup>(1)</sup>P – Pressão (bar); T – Temperatura (°C); CS – Cossolvente (%)

<sup>(2)</sup>SQ – Soma dos Quadrados

<sup>(3)</sup>GL – Graus de Liberdade

<sup>(4)</sup>QM – Quadrado Médio

<sup>(5)</sup>R<sup>2</sup> – Coeficiente de determinação = SQr/SQT

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 22. ANOVA – Análise de Variância para os dados obtidos na extração supercrítica para caules (*Costus spicatus*).

Fatores <sup>(1)</sup>	SQ <sup>(2)</sup>	GL <sup>(3)</sup>	QM <sup>(4)</sup>	Fcal	P	R <sup>2(5)</sup>
(1) P (L)	<b>0,1024</b>	<b>1</b>	<b>0,1024</b>	<b>65,5430</b>	<b>0,0149</b>	0,9574
P (Q)	<b>0,0547</b>	<b>1</b>	<b>0,0547</b>	<b>35,0000</b>	<b>0,0274</b>	
(2) T (L)	<b>0,0743</b>	<b>1</b>	<b>0,0743</b>	<b>47,5680</b>	<b>0,0204</b>	
T (Q)	<b>0,0446</b>	<b>1</b>	<b>0,0446</b>	<b>28,5360</b>	<b>0,0333</b>	
(3) CS (L)	<b>1,7570</b>	<b>1</b>	<b>1,7570</b>	<b>1124,568</b>	<b>0,0009</b>	
CS (Q)	0,0252	1	0,0252	16,1030	0,0569	
1L x 2L	0,0286	1	0,0286	18,2810	0,0506	
1L x 3L	0,0047	1	0,0047	3,0110	0,2248	
2L x 3L	<b>0,0703</b>	<b>1</b>	<b>0,0703</b>	<b>45,0050</b>	<b>0,0215</b>	
Falta de ajuste	0,0952	5	0,0191	12,1920	0,0776	
Erro puro	0,0031	2	0,0016			
Total SQ	2,3077	16				

<sup>(1)</sup>P – Pressão (bar); T – Temperatura (°C); CS – Cossolvente (%)

<sup>(2)</sup>SQ – Soma dos Quadrados

<sup>(3)</sup>GL – Graus de Liberdade

<sup>(4)</sup>QM – Quadrado Médio

<sup>(5)</sup>R<sup>2</sup> – Coeficiente de determinação = SQr/SQT

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

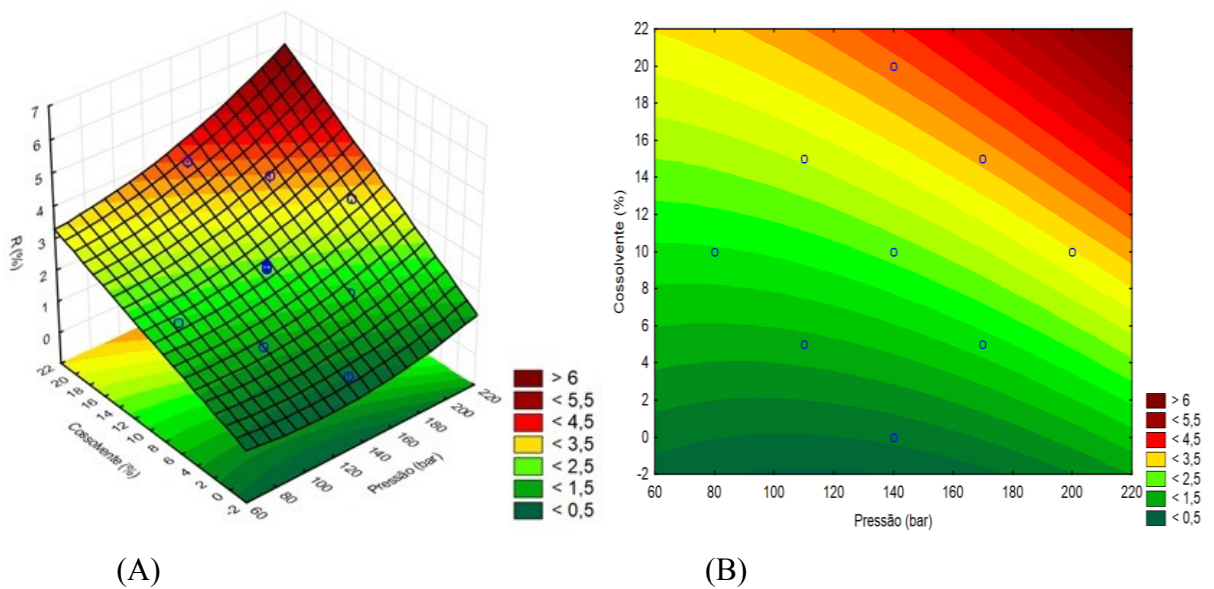
Os gráficos de superfície de resposta e as projeções de seus cortes sobre o plano de fatores, gerando as linhas de contorno, descrevem de forma gráfica o modelo ajustado. Deste



modo, proporciona um melhor entendimento sobre a influência dos fatores e indica as regiões com os maiores rendimentos, de acordo com os fatores analisados.

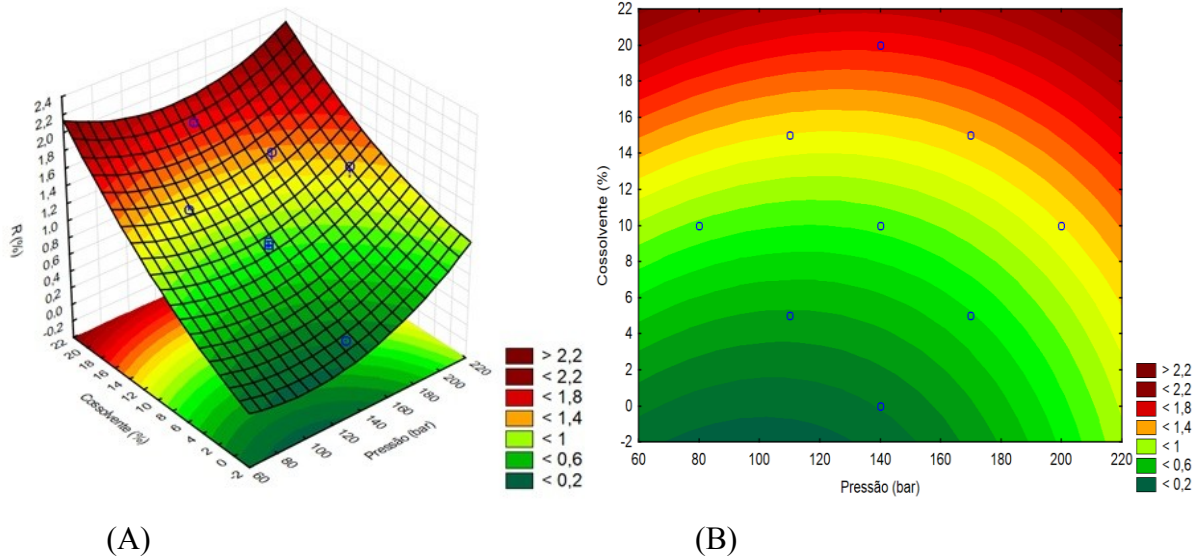
As Figuras 20 e 21 apresentam os gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno da pressão em função da concentração de cossolvente, com relação ao rendimento global de extração supercrítica para as folhas e caules, respectivamente.

Figura 20. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para folhas (*Costus spicatus*). (A) Superfície de resposta da pressão em função da concentração de cossolvente. (B) Linhas de contorno da pressão em função da concentração de cossolvente.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Figura 21. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para caules (*Costus spicatus*). (A) Superfície de resposta da pressão em função da concentração de cossolvente. (B) Linhas de contorno da pressão em função da concentração de cossolvente.

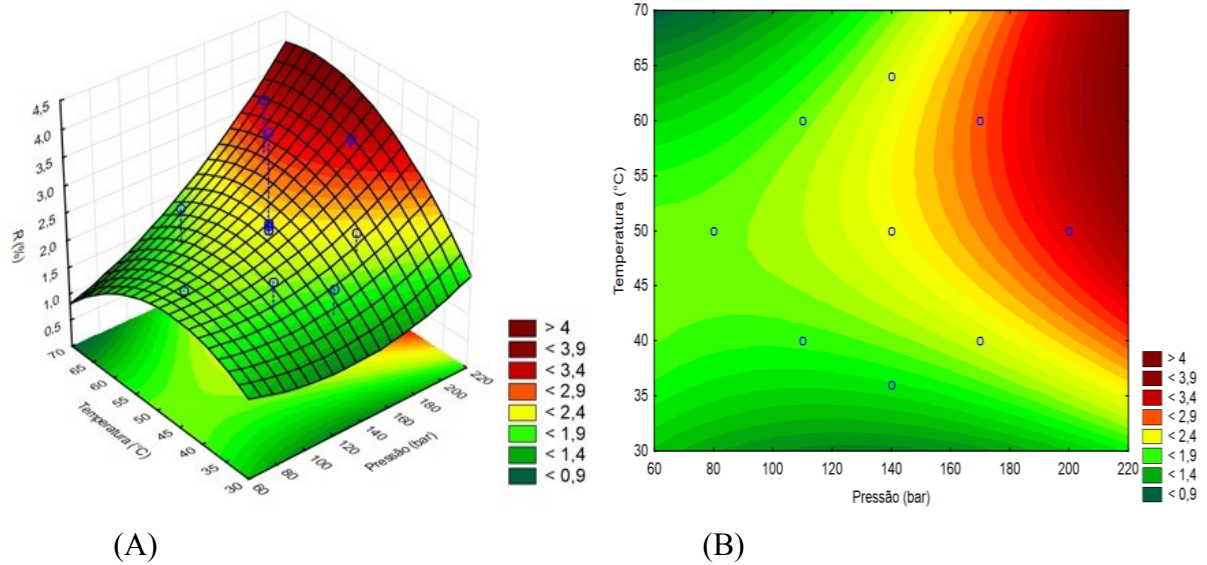


Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Para as folhas, Figura 20, observa-se que os maiores rendimentos ocorreram para níveis altos de pressão e concentração de cossolvente. De acordo com os intervalos estudados, os rendimentos aumentaram quando se aplicavam pressões acima de 100bar e concentrações de cossolvente acima de 10%. Já para os caules, Figura 21, os maiores rendimentos foram verificados em concentrações de cossolvente mais altas, onde os maiores rendimentos foram obtidos ao aplicar concentrações acima de 14%.

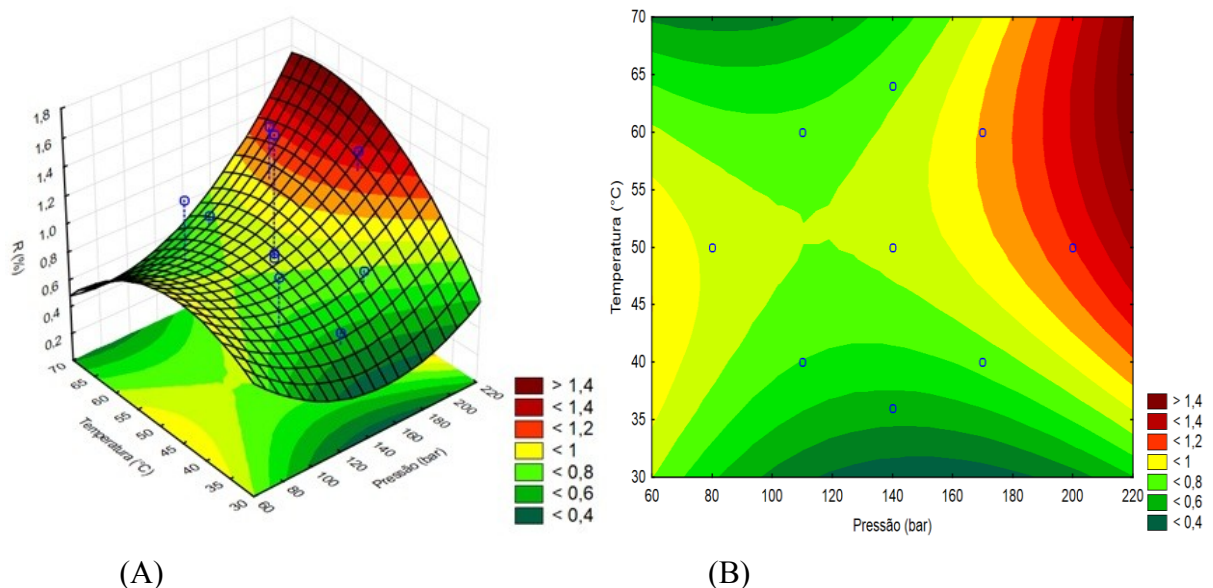
As Figuras 22 e 23 apresentam os gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno da pressão em função da temperatura para o rendimento de extração supercrítica para as folhas e caules, respectivamente.

Figura 22. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para folhas (*Costus spicatus*). (A) Superfície de resposta da pressão em função temperatura. (B) Linhas de contorno da pressão em função da temperatura.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Figura 23. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para caules (*Costus spicatus*). (A) Superfície de resposta da pressão em função temperatura. (B) Linhas de contorno da pressão em função da temperatura.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

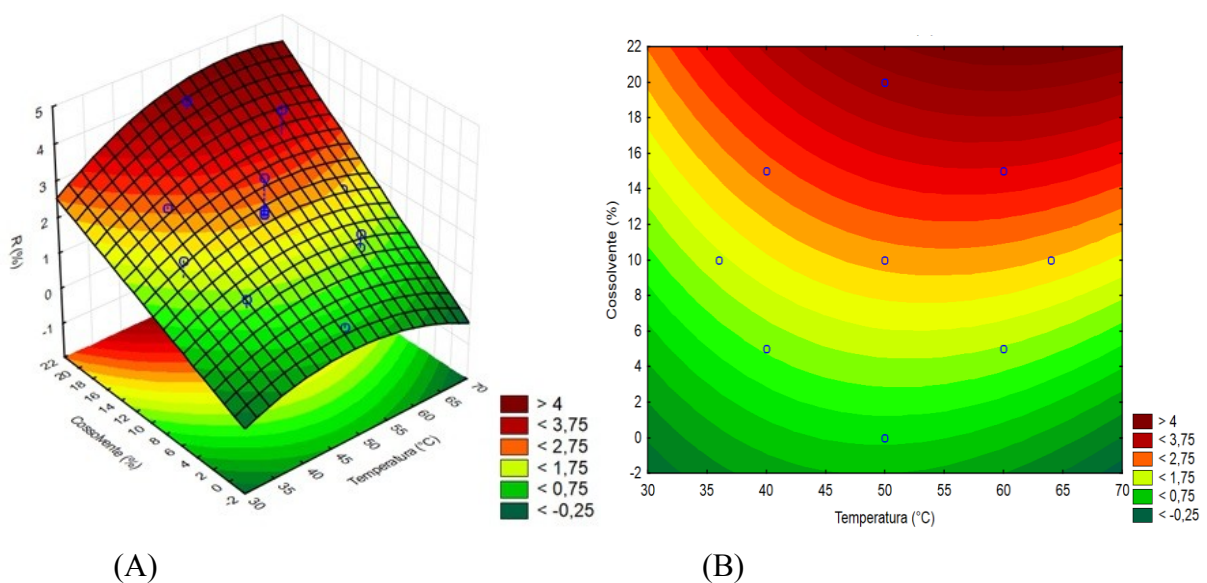
Ao analisar o gráfico das linhas de contorno para as folhas, Figura 22-B, e para os caules, Figura 23-B, é possível identificar a interferência da temperatura e as regiões onde o

efeito da densidade do CO<sub>2</sub>, rendimento diminui com o aumento da temperatura, ou pressão de vapor, rendimento aumenta com o aumento da temperatura, foram dominantes.

Para as folhas, Figura 22-B, analisando em pressões superiores a 130bar, a aplicação de temperaturas acima de 55°C apresentou o efeito da densidade do CO<sub>2</sub> como efeito dominante. Já a aplicação de temperaturas abaixo de 50°C, apresentou o efeito da pressão de vapor. Com relação ao caule, Figura 23-B, observando em pressões superiores a 150bar, a utilização de temperaturas acima de 55°C apresentou a densidade do CO<sub>2</sub> com efeito dominante e abaixo dessa temperatura apresenta a pressão de vapor como dominante.

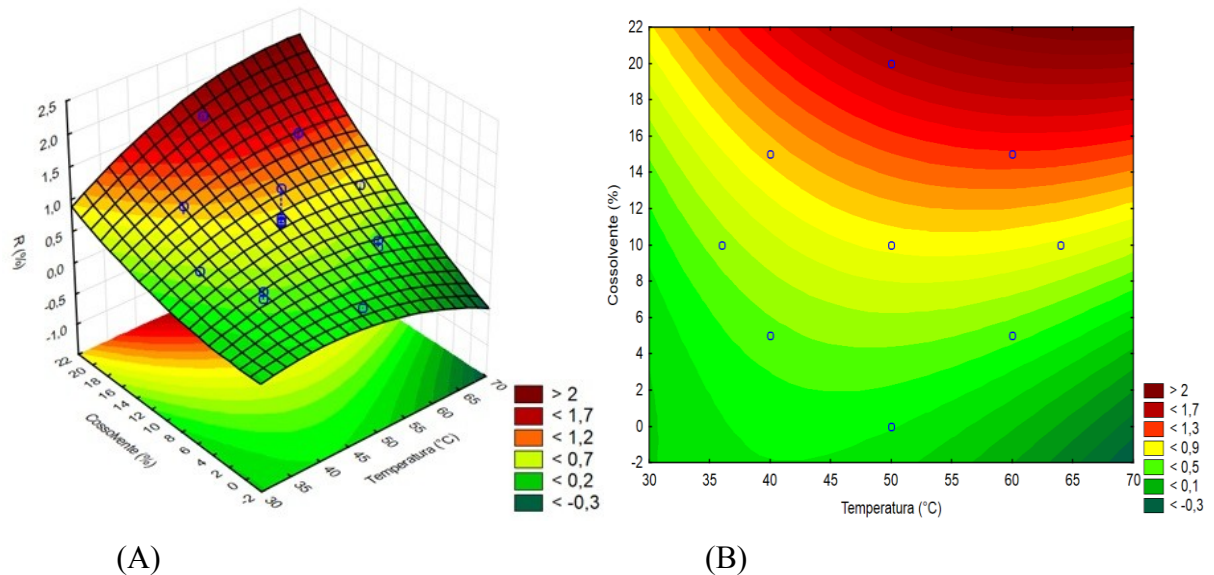
As Figuras posteriores apresentam os gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno da concentração de cossolvente em função da temperatura para o rendimento de extração supercrítica. O comportamento observado para as folhas (Figura 24) e caules (Figura 25) foram similares, onde os maiores rendimentos foram observados em maiores concentrações de cossolvente. Além disso, observa-se no gráfico de linhas de contorno para folhas, Figura 24-B, e caules, Figura 25-B, que os maiores rendimentos de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico da *Costus spicatus* podem ser obtidos ao aplicar valores acima de 10% de cossolvente e 50°C de temperatura.

Figura 24. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para folhas (*Costus spicatus*). (A) Superfície de resposta da concentração do cossolvente em função temperatura. (B) Linhas de contorno da concentração do cossolvente em função da temperatura.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Figura 25. Gráficos de superfície de resposta e linhas de contorno para o rendimento global de extração supercrítica para caules (*Costus spicatus*). (A) Superfície de resposta da concentração do cossolvente em função temperatura. (B) Linhas de contorno da concentração do cossolvente em função da temperatura.

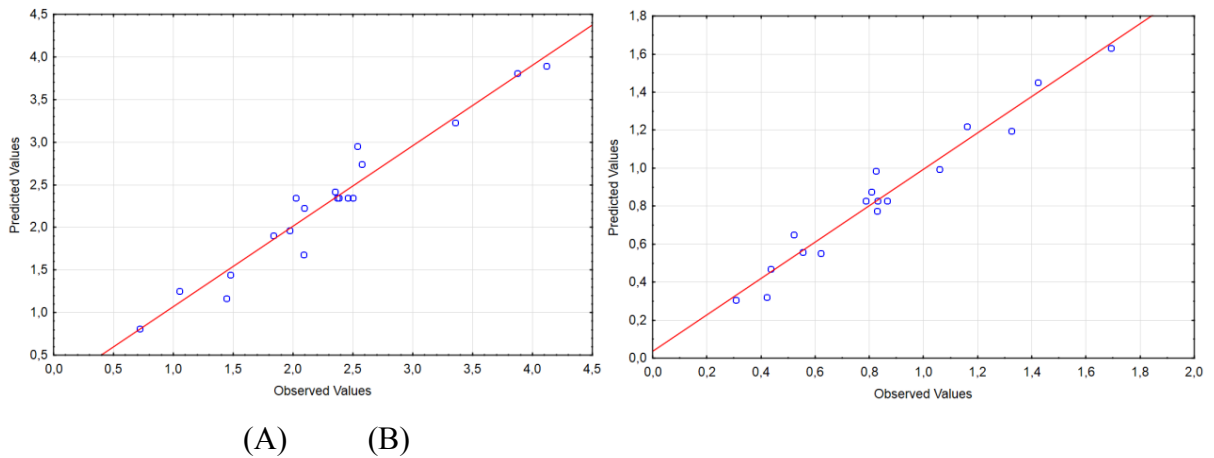


Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Não foram encontrados trabalhos na literatura com extrações supercríticas envolvendo folhas ou caules da *Costus spicatus*. Deste modo, não foram empregadas referências diretas que busquem apresentar as influências dos fatores estudados (pressão, temperatura e concentração de cossolvente) no rendimento de extração.

Os gráficos de valores preditos *versus* observados para os rendimentos dos extratos supercríticos das folhas e caules da *Costus spicatus* foram plotados e podem ser observados na Figura 26. A partir dos gráficos, é possível analisar a adequabilidade do modelo de regressão linear. Tanto as folhas, Figura 26-A, quanto os caules, Figura 26-B, apresentaram bons ajustes dos dados, indicando uma relação linear entre as variáveis de acordo com o intervalo de condições operacionais estudados (80-200bar, 36-64°C, 0-20% de etanol como cossolvente, vazão 3 mL/min).

Figura 26. Valores preditos versus observados. Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de *Costus spicatus*. (A) Folhas e (B) Caules.

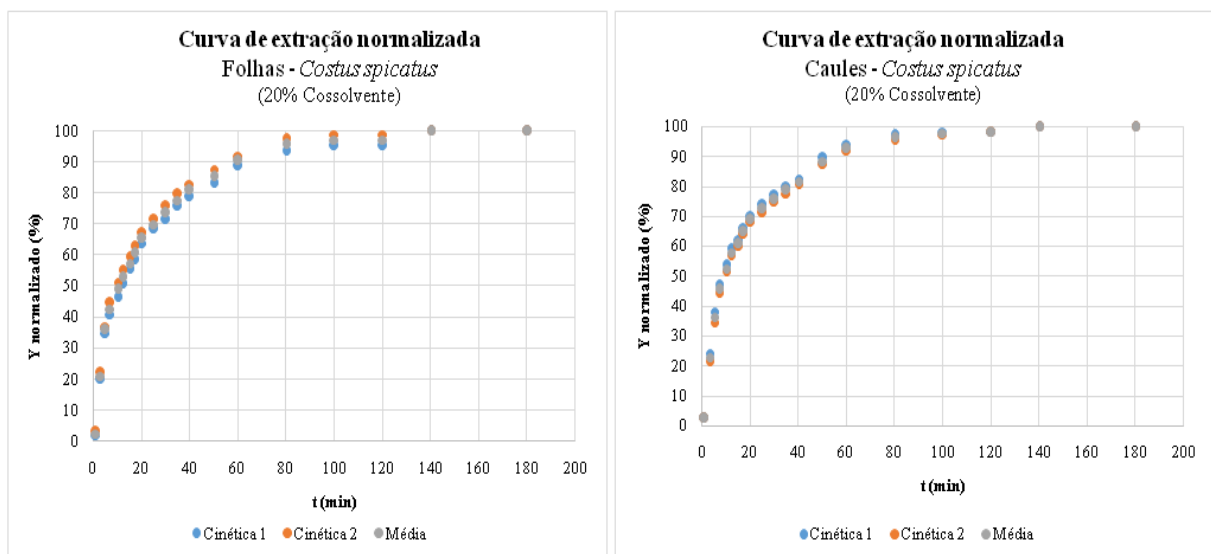


Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

### 5.3.2.3 Curvas globais de Extração

De acordo com os resultados do planejamento experimental, o ensaio 14, nas condições de operação (140bar, 50°C e 20%) e vazão de 3,0 mL/min, obteve o maior rendimento para as folhas e caules (*Costus spicatus*). Então, diante disso, optou-se por realizar a cinética para observar o comportamento do rendimento ao longo do tempo deste ensaio. Uma curva foi plotada para cada extração realizada (para as folhas e caules), assim como, para a média da duplicata, conforme pode ser observado na Figura 27.

Figura 27. Curva de extração supercrítico nas folhas e caules (*Costus spicatus*), na condição de 140bar, 50°C e 20% de etanol e vazão de 3,0 mL/min.

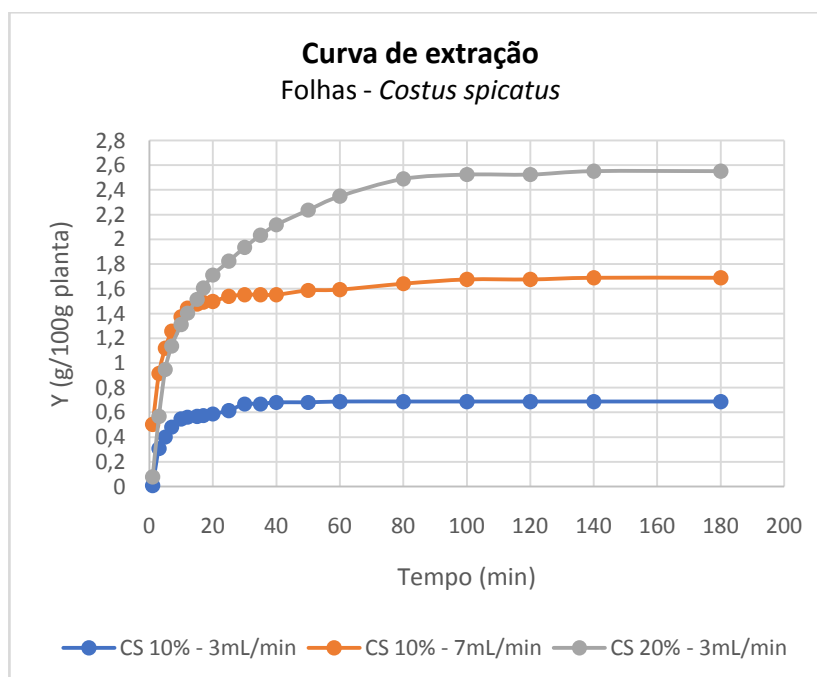


Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Neste estudo, as cinéticas para as folhas e caules apresentaram um comportamento típico, no que normalmente ocorre nas curvas de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico, com três etapas distintas CER, FER e DC. Ao analisar a Figura 27, percebeu-se que nos 20 minutos iniciais, etapa CER, nas folhas e caules, houve um rápido arraste do extrato de massa acumulado em um pequeno intervalo de tempo, o que retrata a rápida solubilização do extrato pelo CO<sub>2</sub> supercrítico. Já na etapa FER, revelou uma redução ao longo do tempo da mobilidade do solvente pelo *Costus spicatus*. Além disso, foi possível constatar que após um período de 120 minutos (etapa DC), para as folhas e caules, a quantidade de extrato obtido foi constante, devido a taxa de transferência de massa ser baixa e o acréscimo de rendimento ser insignificante. Tendo em vista que este período apresenta um gasto energético sem obter quantidades consideráveis de extrato, logo, em uma futura aplicação industrial, isso pode apresentar um alto custo.

Após o estudo das curvas de extração para as folhas e caules, foram realizados testes extras de curva de extração para três condições operacionais diferentes, conforme apresentado na Figura 28. De modo global, os comportamentos das curvas de extração das folhas de *Costus spicatus* se mostraram típica em comparação à dinâmica encontrada para a ESC, em que apresenta três etapas de extração demarcadas.

Figura 28. Curvas de extração supercrítica nas folhas (*Costus spicatus*) em três condições diferentes, I - 140bar, 50°C e 10%, e vazão de 3,0mL/min; II - 140bar, 50°C e 10%, e vazão de 7,0 mL/min e III - 140bar, 50°C e 20%, e vazão de 3,0 mL/min.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Analisando as duas curvas de extração para as mesmas condições processo (140bar, 50°C e 10%), sendo que uma com a vazão de 3,0 mL/min e outra com 7,0 mL/min, pode-se observar que, embora seja apenas um teste qualitativo por não haver repetições, o resultado revelou que a taxa de extração aumenta com o aumento de vazão do solvente na primeira etapa de extração, por causa da maior vazão de solvente inserido no leito de extração. De acordo com Kitzberger (2005), esse comportamento pode estar relacionado a maior concentração de soluto presente na superfície da partícula que é retirado na etapa I de forma rápida ou por causa da porosidade do sólido na matriz, causando a extração do soluto por difusão mais rapidamente nesta etapa.

Na vazão de 3,0 mL/min, a massa de extrato obtida a 10 min foi de 0,547 (g/100g planta), enquanto que ao mesmo tempo na vazão de 7,0 mL/min foi de 1,373 (g/100g planta). Corroborando com o trabalho de Hall (2018), que realizou extração de sementes de mamão.

Ainda observando a Figura 28, constatou-se que ocorreu um aumento de rendimento de extração ao aumentar a quantidade de cossolvente de 10 para 20%, nas mesmas condições de processo (140bar, 50°C) e vazão de 3,0 mL/min. Esse comportamento já era esperado, pois a quantidade de cossolvente favorece as interações do solvente com o soluto, ocasionando aumento na solubilização e provocando um maior rendimento.

Laurintino (2018) observou que, independente da pressão e temperatura utilizada no processo, o aumento do rendimento foi proporcional ao aumento da concentração de cossolvente. Da mesma forma, os resultados corroboram com os resultados obtidos nos trabalhos de Marangoni (2011) e Pies (2017), onde conseguiram observar que a adição de etanol testada, aumentou o rendimento, nos extratos de *Derris elliptica* e casca de jatubicaba, respectivamente.

#### 5.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS OBTIDOS POR MEIO DA EXTRAÇÃO COM CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO

Os componentes identificados nos extratos supercríticos de folhas e caules da *Costus spicatus* podem ser observados nas Tabelas 23 e 24, respectivamente. A partir das tabelas, é possível observar a influência dos parâmetros operacionais na composição química dos extratos, analisando o perfil dos extratos em todas as condições aplicadas dos planejamentos experimentais.



Tabela 23. Perfil químico dos extratos obtidos nas condições do planejamento experimental para as folhas *Costus spicatus*.

Compostos (Área percentual)	PARÂMETROS DO PROCESSO NA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA														
	Folhas - <i>Costus spicatus</i>														
	110bar 40°C 5%	170bar 40°C 5%	110bar 60°C 5%	170bar 60°C 5%	110bar 40°C 15%	170bar 40°C 15%	110bar 60°C 15%	170bar 60°C 15%	80bar 50°C 10%	200bar 50°C 10%	140bar 36°C 10%	140bar 64°C 10%	140bar 50°C 0%	140bar 50°C 20%	140bar 50°C 10%
Ácido linolênico	16,6803	15,1913	18,0811	16,6328	15,4879	16,7122	14,8175	13,6909	14,1317	13,4299	13,1426	11,8466	13,0998	12,3262	12,3303
Friedelin	13,3992	12,6830	14,6433	13,4773	12,4479	17,0167	13,3185	13,4099	13,953	17,055	16,1351	15,2111	14,7186	14,2456	18,8039
Ácido palmítico	9,6839	9,8694	11,4969	10,7373	12,0215	12,3998	11,4734	11,1722	12,7098	9,4792	11,9777	9,3982	8,5459	10,1739	9,2974
Sitosterol	7,2257	7,1204	7,5073	7,8579	7,914	9,2271	8,5058	8,4945	9,8867	9,5078	9,5407	9,6782	8,1476	9,3355	10,0984
Ácido linolêico	5,8345	5,4575	5,5202	6,0219	5,4257	4,8640	4,9520	4,6100	4,5980	4,0020	4,4544	3,6201	5,8351	3,8934	3,6052
Stigmasterol	5,1018	4,7793	5,1225	5,4475	4,7186	6,1803	5,3713	5,4935	5,7257	6,7668	6,2469	6,2734	5,9566	6,1527	7,1939
Vitamina E	3,4503	2,7352	2,5875	3,4121	1,7493	1,9064	1,8816	2,1704	1,8324	2,8303	1,9996	2,4978	3,6027	1,9009	3,0230
Fitol	2,1067	1,6551	2,4752	1,7844	3,9607	4,1053	3,8551	4,4472	3,7184	3,3017	2,6673	3,0290	1,2490	4,5241	4,6229
Ácido octadecanóico	1,5034	0,9898	1,7095	1,3601	1,4519	-	1,2101	1,1278	1,4937	-	-	-	0,8445	0,6498	-
Tetracosane	0,7668	7,4891	3,0746	1,1134	2,8013	-	2,5898	5,0302	-	2,3270	-	3,0580	1,7631	-	-
Eicosane	0,3054	4,0008	5,5410	-	-	4,3392	4,7702	2,9628	3,5062	1,4833	1,8790	2,4631	0,9575	4,1251	-
Acetato de fitol	0,1487	1,7427	-	1,5503	1,8947	-	2,6198	2,9361	-	-	-	2,7474	0,1929	-	-
Heptacosane	0,6289	0,9141	1,1385	0,6700	1,1018	-	1,2635	-	-	1,2086	1,1673	1,3091	0,8550	1,3428	1,4034
Ácido laurico	0,3259	0,3783	0,4183	0,3564	0,5006	-	0,4854	0,4724	-	-	-	-	0,2324	0,5934	-
Ácido palmítico, éster etílico	0,1818	-	0,4999	0,2995	-	-	-	-	-	0,5347	-	0,7495	0,2009	0,4709	-
Ácido linolênico, éster etílico	0,4977	-	1,0231	0,5330	-	-	-	-	-	-	-	1,1140	-	0,8287	-
Octadecane	-	-	-	-	-	2,9975	-	-	-	-	1,3295	-	0,6026	-	2,1121
Campesterol	-	-	-	1,6879	-	-	-	-	2,2113	-	-	-	2,4499	-	2,6263
Ácido odocosanoico, éster metílico	-	0,4444	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2246	-	-
Ácido hexacosanoico, éster metílico	0,1218	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1625	-	-

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Tabela 24. Perfil químico dos extratos obtidos nas condições do planejamento experimental para os caules *Costus spicatus*.

Compostos (Área percentual)	PARÂMETROS DO PROCESSO NA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA														
	Caules - <i>Costus spicatus</i>														
	110bar 40°C 5%	170bar 40°C 5%	110bar 60°C 5%	170bar 60°C 5%	110bar 40°C 15%	170bar 40°C 15%	110bar 60°C 15%	170bar 60°C 15%	80bar 50°C 10%	200bar 50°C 10%	140bar 36°C 10%	140bar 64°C 10%	140bar 50°C 0%	140bar 50°C 20%	140bar 50°C 10%
Sitosterol	17,3754	16,5984	15,467	19,5274	11,4284	13,2395	12,2278	11,8569	11,9515	13,0149	16,1354	13,243	17,9263	12,445	13,1658
Stigmasterol	15,388	15,1411	14,0027	18,2359	9,6769	11,3859	10,6037	9,9816	10,2358	11,4951	13,6961	11,7131	18,6288	10,223	11,8238
Ácido palmítico	6,3646	7,0309	7,0067	3,7415	9,7238	9,4199	9,6549	8,6618	9,1001	8,6007	7,2669	8,3317	1,6655	7,3859	7,9556
Ácido linolêico	5,0449	5,0758	5,5830	2,6535	7,7861	5,9916	7,4526	6,3248	6,2753	5,3473	3,3706	5,5474	1,2246	3,8219	4,8497
Ácido palmítico, éster etílico	0,4729	0,4314	0,4459	0,3871	0,3549	0,2599	0,3679	0,3565	0,4327	0,346	0,8767	0,3155	0,4057	0,4196	0,3911
Ácido linolênico	5,3249	5,2513	5,4555	2,6888	6,6326	5,5039	6,7867	5,6808	5,4591	4,7919	3,1454	4,8711	-	4,0095	4,3408
Fitol	0,6236	0,8186	0,3803	0,7653	0,9456	1,1316	0,9045	0,7905	0,8446	0,8045	0,9349	0,7667	-	0,6699	0,8266
Ácido laurico	0,2350	0,3364	0,3798	0,1558	0,5958	0,4867	0,6090	0,5173	0,5032	0,5170	0,4662	0,5926	-	0,5305	0,5098
Friedelin	5,4637	4,8257	4,4947	-	3,4159	3,7258	3,5287	3,1215	3,4992	3,2789	4,4219	3,4383	-	3,6231	3,4019
Eicosane	1,6602	2,2248	1,4769	1,4304	0,7698	1,083	0,8475	0,9038	1,6879	1,6840	-	0,7561	-	1,3372	0,7190
Ácido linolênico, éster etílico	0,4552	0,6255	0,5430	0,3257	0,4516	0,3137	0,4761	0,4749	0,5930	0,3239	0,9491	0,3219	-	-	0,3650
Ácido linolêico, éster etílico	0,7884	0,9049	-	0,5409	-	0,8883	1,2248	1,0901	1,1573	0,7601	1,4233	-	0,6610	0,9042	0,6860
Vitamina E	0,4500	0,5553	0,6284	-	0,3396	0,3367	0,4078	0,3294	0,4274	0,6509	0,4588	0,5252	-	-	0,6633
Heptacosane	0,6236	0,5697	-	-	0,6884	0,8267	0,8059	0,7635	0,8338	0,7562	0,7550	-	-	0,7582	0,5709
Octadecano	-	0,9568	1,1555	-	0,7866	0,7889	0,5955	0,9392	0,8423	0,8909	0,9274	0,7930	2,4017	-	-
Ácido penta decanoico	-	-	-	-	0,3234	0,2960	0,3216	0,2770	0,3164	0,3155	0,1958	0,3170	-	0,2561	0,2398
Ácido tetra decanoico	-	-	-	-	0,3570	0,0892	0,2724	0,3241	0,2932	0,3097	-	0,3409	-	0,2902	0,2906
Tetracosane	-	-	1,1617	-	0,8759	1,0159	0,9204	-	-	-	-	0,8027	-	1,3744	0,8280
Antracina	0,3318	-	0,3835	-	0,4202	-	0,4201	-	-	-	-	0,5843	-	0,4165	-
Campesterol	-	-	6,2475	-	4,6415	-	-	-	-	-	6,8402	-	-	5,6502	5,8347

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

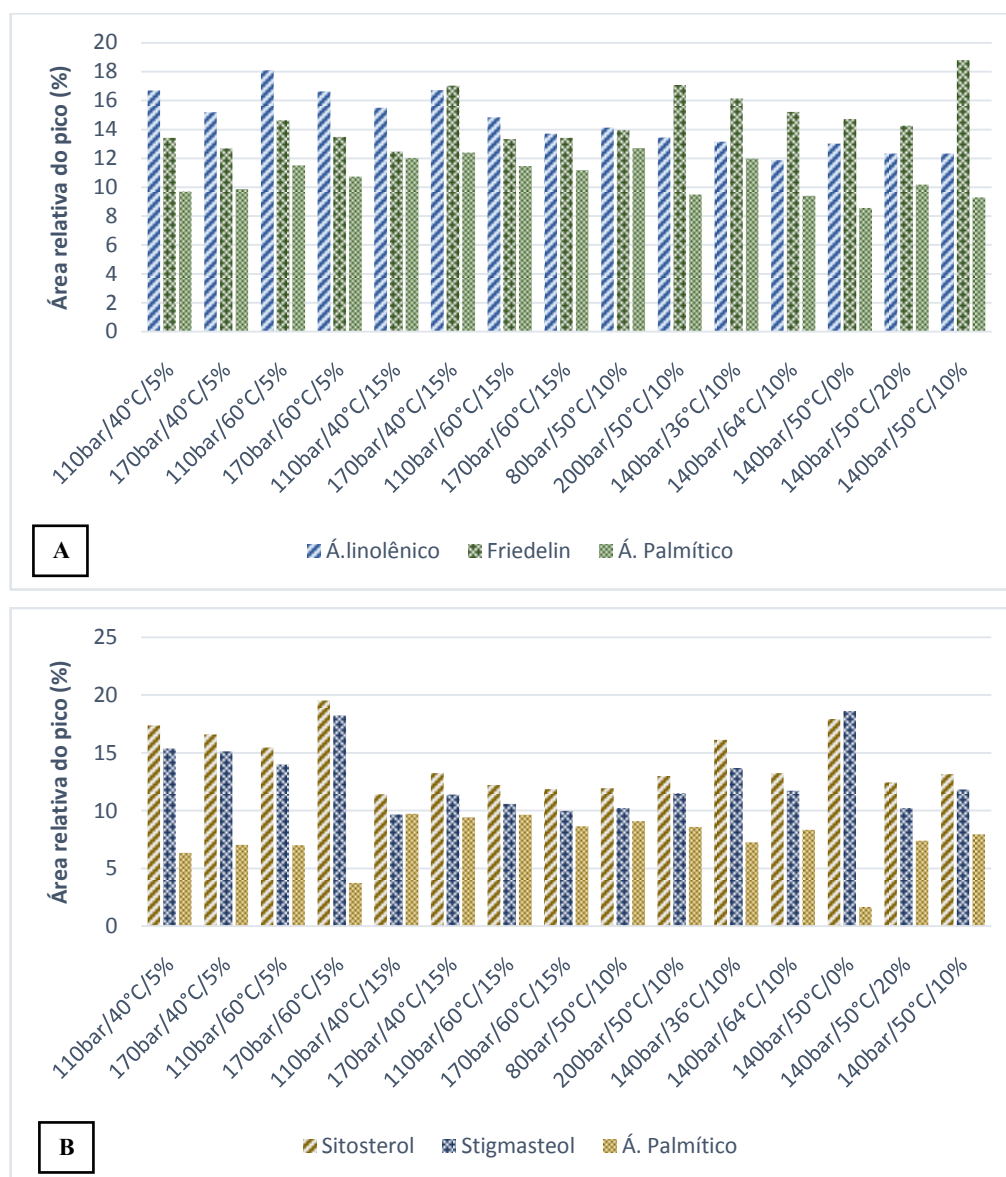
Ao observar a Tabela 23, verifica-se que os componentes presentes nas folhas da *Costus spicatus* que se apresentaram em maior quantidade em todos os ensaios do planejamento experimental foram: Ácido linolênico, Friedelin, Ácido palmítico, Sitosterol, Ácido linoléico, Stigmasterol, Vitamina E e Fitol.

Com relação aos compostos identificados nos extratos supercríticos dos caules, Tabela 24, verifica-se que os compostos que se apresentaram em maior quantidade em todos os ensaios realizados foram: Sitosterol, Stigmasterol, Ácido palmítico, Ácido linoléico, Ácido linolênico e Friedelin.

A Figura 29 apresenta as frações dos três compostos majoritários dos extratos supercríticos para folhas e caules. Embora os extratos supercríticos tenham apresentado uma similaridade na composição química dos ensaios do planejamento, com diferenças nas porcentagens dos compostos para cada condição, os perfis químicos das folhas e caules não apresentaram um padrão claro em função das variáveis analisadas - pressão, temperatura e concentração de solvente.

Vale salientar que não foram encontrados estudos na literatura da espécie *Costus spicatus* com a técnica de extração com fluidos supercríticos, tornando este trabalho inovador, que fornece informações nunca antes publicadas sobre as folhas e os caules da espécie. Deste modo, os resultados podem ser analisados sob diversos aspectos.

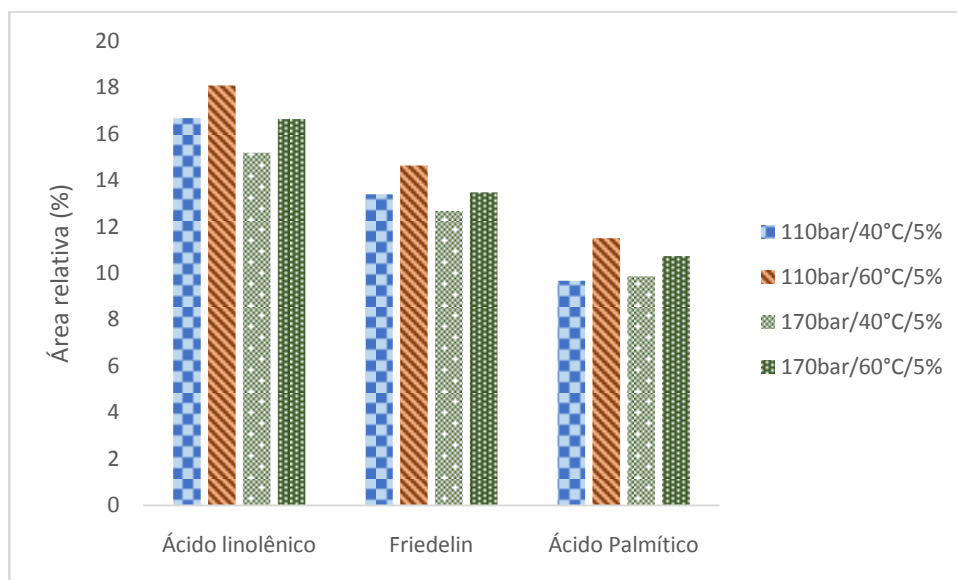
Figura 29. Compostos majoritários das extrações com CO<sub>2</sub> supercrítico de *Costus spicatus*. (A) Folhas e (B) Caules.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

A Figura 30 apresenta a comparação da composição química dos extratos supercríticos das folhas da *Costus spicatus* em pressões 110 e 170 bar e temperaturas 40 e 60°C, em uma concentração fixa de cossolvente. Deste modo, é possível visualizar a influência da pressão e da temperatura no percentual dos compostos majoritários.

Figura 30. Comparação dos perfis químicos dos extratos das folhas *Costus spicatus* obtidos nas pressões 110 e 170bar, temperaturas 40 e 60°C e uma concentração de cossolvente fixa em 5%.

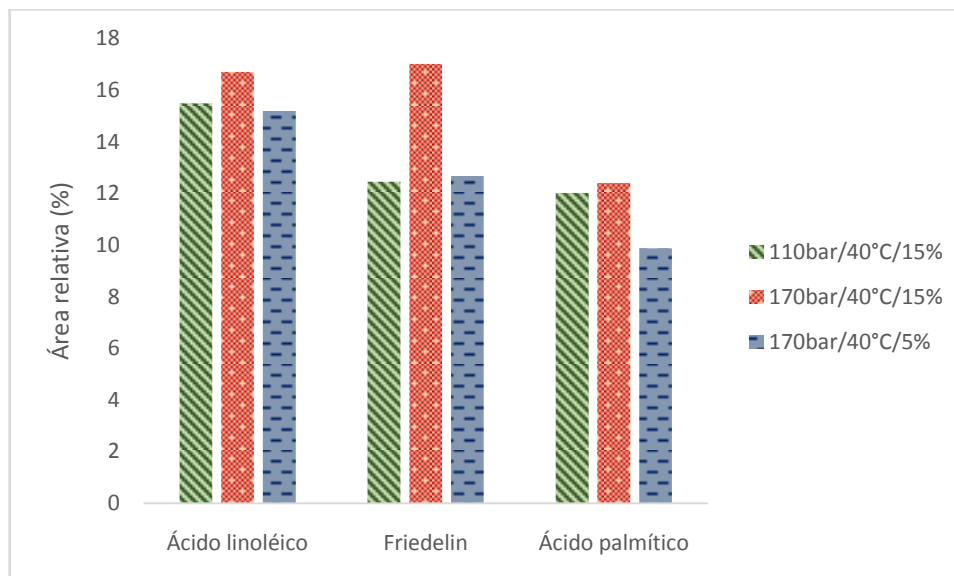


Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Observando os resultados obtidos na pressão de 110 bar, com cossolvente fixo em 5% de etanol, pode-se verificar que a seletividade dos compostos majoritários é consideravelmente aumentada. O mesmo comportamento pode ser verificado na pressão de 170 bar, quando a temperatura aumentou de 40°C para 60°C. Esse aumento pode ser justificado pela predominância do efeito da pressão de vapor no intervalo do processo estudado, onde o aumento da temperatura elevou a pressão de vapor dos componentes, facilitando a passagem para a fase fluida e, conseqüentemente, a sua extração.

O efeito da concentração do cossolvente e pressão na composição química dos extratos supercríticos das folhas da *Costus spicatus*, com temperatura fixa em 40°C, pode ser verificado na Figura 31 a seguir.

Figura 31. Comparação dos perfis químicos dos extratos das folhas *Costus spicatus* obtidos nas pressões 110 e 170bar, concentrações de cossolvente 5 e 15% e temperatura fixa em 40°C.



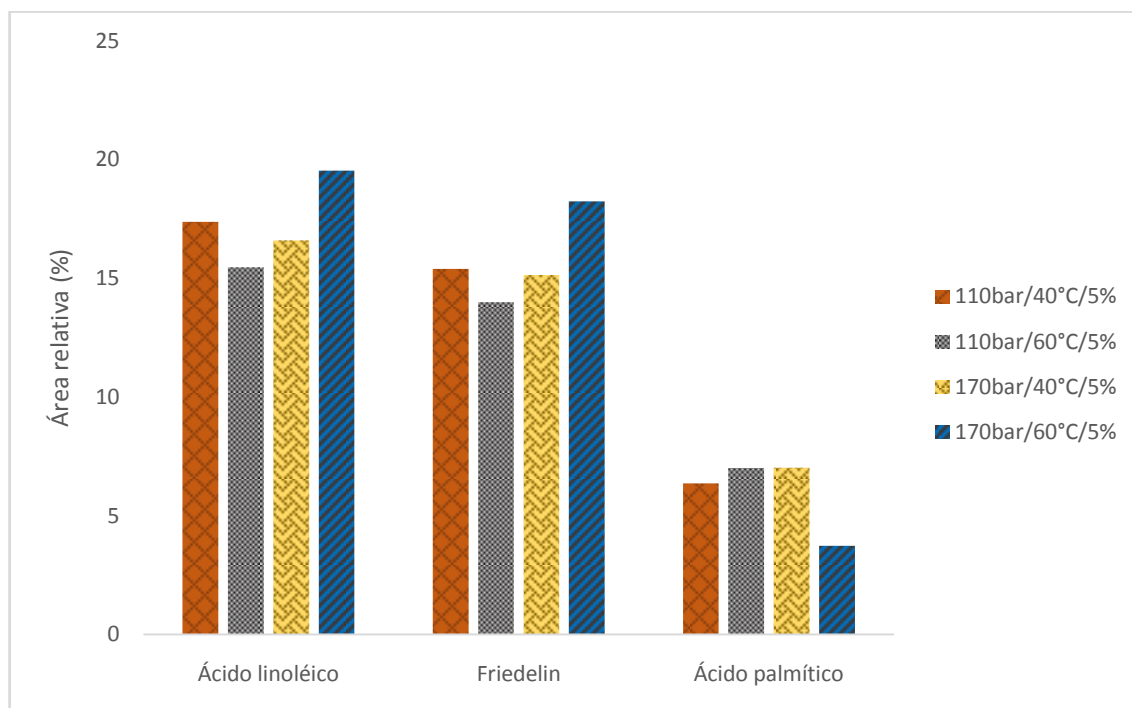
Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Ao analisar a Figura 31, verifica-se que a seletividade dos compostos majoritários foi aumentada ao elevar a pressão de 110 para 170bar, ao empregar uma concentração de 15% de cossolvente e temperatura de 40°C no processo. Esse resultado já era esperado, visto que o aumento da pressão elevou a densidade do CO<sub>2</sub> supercrítico, conseqüentemente, aumentou o seu poder de solvatação e rendimento na extração.

Com relação ao uso do cossolvente, é possível observar que ao diminuir a concentração de 15 para 5% de cossolvente, em ensaios com pressões de 170bar e temperaturas 40°C, os compostos majoritários reduziram consideravelmente. Deste modo, no intervalo estudado, o uso de cossolvente favoreceu o aumento da seletividade dos compostos extraíveis das folhas da *Costus spicatus*.

A figura a seguir, Figura 32, apresenta a comparação da composição química dos extratos supercríticos para o caule da *Costus spicatus*, onde é possível analisar o efeito das variáveis pressão (110 e 170bar) e temperatura (40 e 60°C) nos extratos, ao manter a concentração de cossolvente fixa em 5% de etanol.

Figura 32. Comparação dos perfis químicos dos extratos dos caules *Costus spicatus* obtidos nas pressões 110 e 170bar, temperaturas 40 e 60°C e uma concentração de cossolvente fixa em 5%.



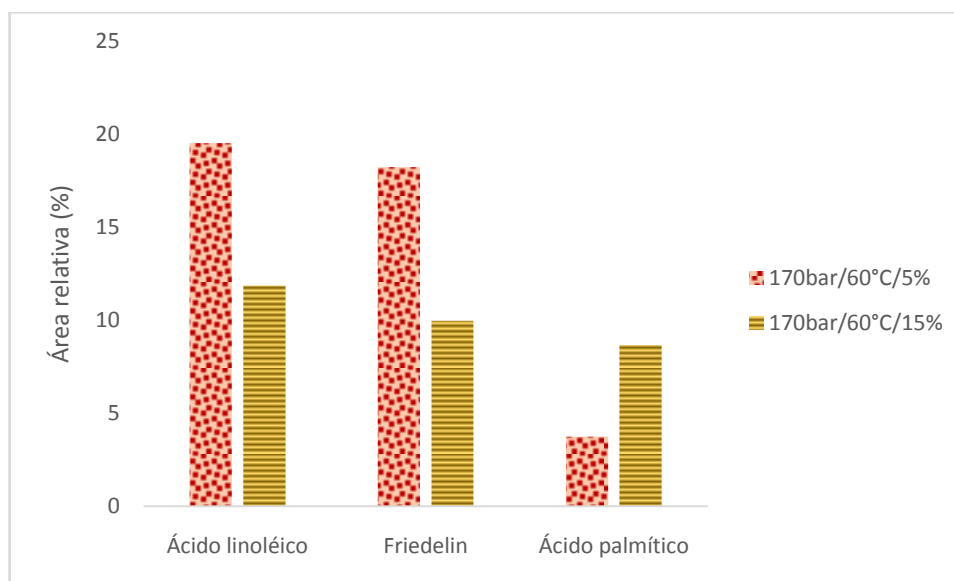
Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Ao analisar a Figura 32, verifica-se que houve uma considerável diminuição do Ácido linoleico e Friedelin com o aumento da temperatura, de 40 para 60°C, em uma pressão fixa em 110bar. Já ao aplicar uma pressão de 170bar, o aumento da temperatura provocou um considerável aumento desses compostos majoritários. Deste modo, é possível observar a presença dos dois efeitos dominantes da temperatura, em uma pressão fixa: (1) na pressão de 110bar, o efeito dominante foi o da densidade do CO<sub>2</sub> supercrítico, onde o aumento da temperatura provocou uma diminuição no rendimento, devido a redução do poder de solvatação do solvente; (2) na pressão de 170bar, o efeito dominante foi o da pressão de vapor, onde o aumento da temperatura proporcionou uma elevação da pressão de vapor dos compostos, obtendo um maior rendimento.

Com relação ao efeito da pressão nos caules da *Costus spicatus*, é possível observar na Figura 32 que, na temperatura de 60°C, existiu um aumento da seletividade dos compostos com o aumento da pressão, de 110 para 170bar. Assim, neste intervalo estudado, o aumento da pressão, elevou a densidade do CO<sub>2</sub> supercrítico, provocando em um aumento no rendimento dos compostos majoritários.

A figura a seguir, Figura 33, apresenta a comparação dos perfis químicos dos extratos dos caules com relação a concentração de cossolvente (5 e 15% de etanol), em ensaios com condições de pressão e temperatura fixa, 170bar e 60°C, respectivamente.

Figura 33. Comparação dos perfis químicos dos extratos dos caules *Costus spicatus* obtidos nas concentrações de 5 e 15% de cossolvente, em uma pressão de 170bar e temperatura de 60°C.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Ao observar a figura 33, é possível identificar que, ao utilizar pressões e temperaturas altas, 170 bar e 60°C, a seletividade dos compostos extraídos nos caules da *Costus spicatus* diminuiu com o aumento da concentração de cossolvente empregado no processo. Assim, os seus compostos majoritários apresentaram uma melhor resposta com extrações aplicando uma maior porcentagem de CO<sub>2</sub> (apolar), do que com o uso do etanol como cossolvente (polar). Deste modo, ao analisar a Figura 33 e a Figura 29-B, em termos de seletividade do processo, a melhor condição para a obtenção de extratos supercríticos dos caules corresponde a 170bar, 60°C e 5% de etanol como cossolvente.

Ao observar as tabelas e gráficos anteriores, verificaram-se os compostos majoritários do extrato supercrítico para as folhas e caules (*Costus spicatus*). A partir disso, foi construída a Tabela 25 contendo os principais compostos e suas respectivas propriedades encontrada na literatura.

Tabela 25. Constituintes fitoquímicos dos compostos majoritários do extrato supercrítico de caules e folhas (*Costus spicatus*) e suas atividades.

<b>Composto</b>	<b>Atividade relatada</b>	<b>Referência</b>
Ácido linolênico	Atividade antimicrobiana, reduz o risco de inflamação, câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e hipertensão.	Corrêa (2018); Chen et al. (2020)
Ácido linoléico	Anti-inflamatório, hipocolesterolêmico, preventivo do câncer, hepatoprotetor, anti-histamínico, antiacne, inibidor da 5- $\alpha$ redutase, atividade antiandrogênica, antiartrítica e antifúngico.	Chhouk et al. (2018)
Ácido palmítico	Antioxidante, hipocolesterolêmico, antiandrogênico, inibidor da 5- $\alpha$ redutase, anti-inflamatório e antipsicótico.	Chhouk et al. (2018); Abubakar e Majinda (2016); Dandekar et al. (2015)
Fitol	Anticâncer; atividade antimicrobiana, antidiabética, antifúngico e antibacteriano.	Prabhadevi et al. (2012); Banaras et al. (2016)
Friedelin	Anti-inflamatória, hepatoprotetora, antibacteriano, antidiarreica, antitumor, antiproliferativa, antipirética, antiulcerogênica e antimicrobiana.	Odeh et al. (2016); Mariot e Barbieri (2007); Silva et al. (2014)
Sitosterol	Atividade antihiperlipidêmica.	Corrêa (2018);
Stigmasterol	Atividade antihiperlipidêmica, inibidor da tireóide, antiperoxidativo e efeitos hipoglicêmicos.	Corrêa (2018); Abubakar e Majinda (2016); Panda, Jafri e Meheta (2008)
Vitamina E	Antioxidante, prevenção de doenças cardiovasculares e de cataratas oftalmológicas.	Siqueira et al. (2003)

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

De acordo com a Tabela 25, foram realizadas pesquisas do composto ativo fitoterápico com atividade anti-inflamatória e este poderoso efeito foi encontrada nos compostos Ácido linolênico, Friedelin, Ácido palmítico e Ácido linoléico nas folhas. Desta forma, as folhas da cana do brejo podem proporcionar importantes benefícios curativos, para alívio dos sintomas em indivíduos com problemas de saúde inflamatórios, como pedra nos rins. Já nos caules, os compostos Sitosterol, Stigmasterol e Ácido linolênico apresentam mecanismos de ação para melhorar o controle glicêmico em doenças com diabetes, ou seja, conferindo propriedades antidiabéticas.

O ácido graxo linoléico e linolênico são considerados ácidos graxos essenciais do ponto de vista nutricional, pois não podem ser sintetizados pelo organismo humano, mas



podem ser adquiridos através da dieta ou outros suplementos (SANTESTEVEAN, 2011). Na maior parte dos tecidos vegetais, o ácido linolênico é o que existe em maior quantidade, com mais de 80% do grupo acil dos lipídios de membrana dos cloroplastos. Já o ácido linoléico apresenta em maior concentração nas sementes e embriões (BATISTA et al., 2002).

A descrição anterior das propriedades medicinais da Friedelin indica que este é um importante composto medicinal. Um estudo realizado por Andrade (2008), ao utilizar folhas de *Maytenus robusta*, apresentou em sua composição o composto friedelin. A partir disso, o extrato contendo esse triterpeno foi avaliado em um modelo de úlcera induzida por HCl/etanol em camundongos. O autor sugeriu que a ação protetora contra lesões gástricas foi atribuída a este composto.

Panda et al. (2008) isolaram o composto stigmasterol da casca de *Butea monosperma* e comprovaram sua eficácia reguladora dos hormônios tireoidianos e estimulante da insulina, conferindo propriedades antiperoxidativas e antidiabéticas.

## 5.5 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE *COSTUS SPICATUS*

Os resultados apresentados na Tabela 26 indicam as técnicas empregadas no presente trabalho que obtiveram os melhores rendimentos, tanto para folhas, quanto para caules da *Costus spicatus*. Foram comparadas as técnicas de baixa e alta pressão que utilizaram solventes no seu processo.

Tabela 26. Valores de rendimento global de extração usando técnicas com solventes para as folhas e caules da *Costus spicatus* aplicando técnicas com solvente de baixa e alta pressão.

Técnica/Solvente	Folhas <sup>(1)</sup>	Caules <sup>(1)</sup>
	Rendimento (%)	Rendimento (%)
Soxhlet/Hexano	1,23 <sup>d</sup> ± 0,23	0,60 <sup>d</sup> ± 0,11
Soxhlet/ Etanol	6,17 <sup>a</sup> ± 0,79	5,06 <sup>a</sup> ± 0,76
Ultrassom/Hexano	3,54 <sup>c</sup> ± 0,13	1,19 <sup>c</sup> ± 0,23
Ultrassom/Etanol	3,86 <sup>b,c</sup> ± 0,65	2,37 <sup>b</sup> ± 0,11
ESC/CO <sub>2</sub> /Etanol <sup>(2)</sup>	4,12 <sup>b</sup> ± 0,07	1,69 <sup>c</sup> ± 0,04

<sup>(1)</sup> Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

<sup>(2)</sup> ESC – Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico – 140bar, 50°C e 20% de etanol como cossolvente.  
Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

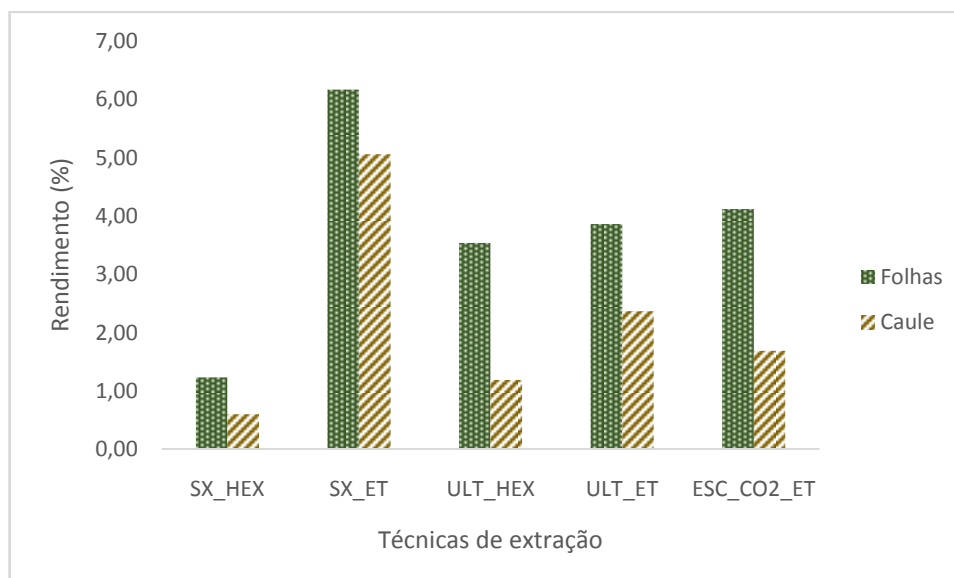
A partir da Tabela 26, é possível verificar que as técnicas que apresentaram os maiores rendimentos para as folhas da *Costus spicatus* foram: soxhlet com etanol (6,17%),

extração supercrítica com cossolvente (4,12%) e ultrassom com etanol (3,86%). O rendimento do extrato obtido por soxhlet/etanol foi maior e estatisticamente diferente quando comparado com as demais técnicas. O ESC/CO<sub>2</sub>/Etanol apresentou um rendimento maior que o ultrassom/etanol, porém, não apresentou diferença significativa no nível de 5% de significância.

Com relação ao caule, as técnicas com maiores rendimentos foram: soxhlet com etanol (5,06%), ultrassom com etanol (2,37%) e extração supercrítica com cossolvente (1,69%). A técnica soxhlet/etanol apresentou um rendimento maior e estatisticamente diferente das técnicas empregadas, comportamento similar ao verificado nas folhas da *Costus spicatus*. O ESC/CO<sub>2</sub>/Etanol obteve o terceiro melhor rendimento para os extratos obtidos nos caules, onde não apresentou diferença significativa com a técnica ultrassom/hexano, ao contrário das folhas, em que o extrato supercrítico não apresentou diferença significativa com o ultrassom/etanol.

Para uma melhor visualização da comparação dos resultados obtidos para a extração empregando diferentes técnicas para folhas e caules da *Costus spicatus*, a Figura 34 foi elaborada e pode ser visualizada a seguir.

Figura 34. Valores de rendimento global de extração usando técnicas com solventes para as folhas e caules da *Costus spicatus*.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

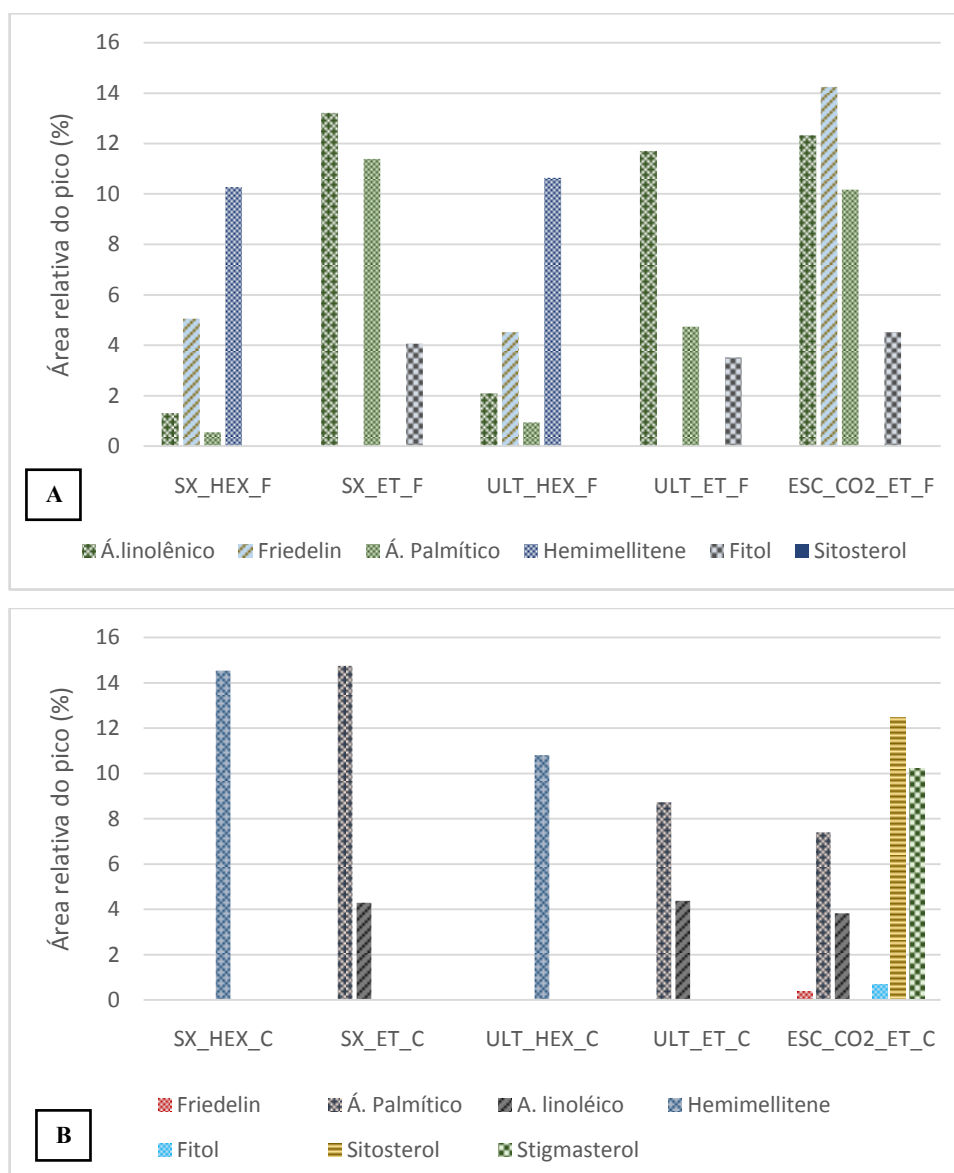
Como pode ser observado na Figura 34, dentre todas as técnicas empregadas, a técnica soxhlet com o solvente hexano apresentou o menor rendimento, tanto para folhas,

quanto para caules. Já empregando o solvente etanol, o soxhlet foi a técnica que apresentou o melhor rendimento entre todas as técnicas estudadas para folhas e caules da *Costus spicatus*.

Ao comparar os métodos de extração com relação aos solventes empregados, verifica-se que o etanol exibiu uma interferência positiva nos rendimentos de extração para *Costus spicatus*, indicando que os compostos presentes nas folhas e caules da espécie estudada apresentam uma polaridade de intermediária a alta.

Com relação a comparação da composição química dos extratos, a Figura 35 apresenta os compostos encontrados em maiores quantidades nos extratos da *Costus spicatus* obtidos por técnicas de baixa e alta pressão.

Figura 35. Comparação da composição química dos extratos da *Costus spicatus* obtidos por técnicas de baixa e alta pressão. (A) Folhas e (B) Caules.



Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Como pode ser observado na Figura 35-A, os compostos que se apresentaram em maiores quantidades em todos os extratos das folhas da *Costus spicatus*, independentemente da técnica ou solvente empregado, foram Ácido linolênico e Ácido palmítico. Os compostos Hemimellitene e Friedelin foram identificados somente nos extratos hexânicos e o Fitol foi identificado em todos os extratos etanólicos.

O extrato supercrítico apresentou frações mais elevadas nos compostos majoritários, caracterizando uma maior seletividade nos compostos extraíveis da folha da *Costus spicatus* pela técnica de alta pressão. Além disso, a Friedelin e o Fitol, que foram identificados apenas nos extratos hexânico e etanólico, respectivamente, foram verificados nos extratos supercríticos. Deste modo, a partir da análise do perfil químico desse extrato, observa-se que este apresenta um amplo potencial de aplicação em diversos setores, devido as importantes atividades biológicas contidas nesses compostos.

Com relação aos compostos majoritários presente nos extratos dos caules, verifica-se que não houve predominância de um mesmo composto nos extratos obtidos, Tabela 35-B. Os extratos hexânicos apresentaram a Hemimellitene como composto majoritário, composto que também foi encontrado no extrato hexânico das folhas da *Costus spicatus*. Os extratos etanólicos apresentaram o ácido palmítico e o ácido linoléico em todas as técnicas utilizadas.

Com relação ao extrato supercrítico do caule, Figura 35-B, observa-se que os compostos Sitosterol, Stigmasterol, Friedelin e Fitol foram encontrados apenas nos extratos obtidos pela técnica de alta pressão, diferenciando o extrato supercrítico dos demais extratos e fornecendo um potencial de aplicação diferente dos extratos obtidos pelas técnicas de baixa pressão.

De acordo com os resultados obtidos, verifica-se que a técnica de extração de alta pressão apresentou uma maior seletividade nos compostos extraídos, quando comparados com a composição dos extratos obtidos pelas técnicas soxhlet e ultrassom. Assim, a técnica de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico e uso de etanol como cossolvente foi selecionada como a melhor técnica para a obtenção dos compostos presentes nas folhas e caules da *Costus spicatus*.

## 5.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH

No presente estudo, os extratos de folhas e caules de *Costus spicatus* extraídos de diferentes técnicas de extração (supercrítica, soxhlet e ultrassom), foram investigados quanto à propriedade de eliminação do radical DPPH (Quadro 2). Quanto menor o valor de EC<sub>50</sub>,

maior a atividade antioxidante do extrato, já que este valor representa a quantidade de extrato necessária para reduzir em 50% a atividade do radical livre.

Quadro 2. A concentração inibitória dos potenciais antioxidantes do extrato de folha e caule de *Costus spicatus*.

Parte vegetativa	Técnica de extração	Solvente	EC <sub>50</sub> (µg/mL)
FOLHA	ESC 110 bar/60°C/5%	CO <sub>2</sub> e EtOH	2576,5 ± 0,16
	ESC 200 bar/50°C/10%		1325,3 ± 0,07
	ESC 140 bar/50°C/20%		1265,6 ± 0,06
	ESC 140 bar/50°C/10%		1442,5 ± 0,12
	Soxhlet	EtOH	867,6 ± 0,02
	Ultrassom		1473,1 ± 0,01
CAULE	ESC 170 bar/60°C/5%	CO <sub>2</sub> e EtOH	1871,8 ± 0,01
	ESC 200 bar/50°C/10%		1865,2 ± 0,04
	ESC 140 bar/50°C/0%		2966,2 ± 0,42
	ESC 140 bar/50°C/20%		1624,1 ± 0,03
	Soxhlet	EtOH	1253,5 ± 0,03
	Ultrassom		2731,1 ± 0,15

Os valores correspondem à média ± desvio padrão.

EC<sub>50</sub>, concentração de inibição 50%

Fonte: Desenvolvido pelo autor, 2020.

Quanto à atividade antioxidante avaliada pelo método do sequestro do radical livre DPPH, todas as condições testadas de pressão e temperatura pela ESC, soxhlet e ultrassom com solvente etanol apresentaram valores de EC<sub>50</sub> superiores a 1000 µg/mL. Exceto no extrato obtido nas folhas pela técnica de soxhlet, com CE<sub>50</sub> 867,6 ± 0,02 µg/mL. Esses valores de EC<sub>50</sub> se apresentaram muito acima daquele que é considerado um antioxidante muito ativo, com valor abaixo de 50 µg/mL (REYNERTSON, BASILE E KENNELLY, 2005).

De maneira geral, pode-se perceber que o extrato obtido pela técnica soxhlet, tanto na folha, quanto no caule, apresentaram maior capacidade de sequestro do radical livre DPPH, quando comparadas a ESC e ultrassom, com valor de CE<sub>50</sub> 867,6 ± 0,02 µg/mL e 1253,5 ± 0,03 µg/mL, respectivamente. Além disso, o comportamento do EC<sub>50</sub> obtidos pela ESC, nas condições de processo testadas, em folhas e caules, apresentou uma melhor atividade antioxidante para este método quando aumentou a adição de cossolvente. Isso pode ser justificado, já que os compostos antioxidantes são mais solúveis em solventes polares, e o uso do cossolvente extrai compostos de característica polar (FERRO et al., 2019).

Pedrosa (2017) e Uliana, Silva e Fronza (2015) avaliaram a atividade antioxidante do extrato de caule e de ramos da *Costus spicatus* por extração fracionada com solventes de polaridade crescente pelo método DPPH e, observaram melhores resultados de EC<sub>50</sub> para o solvente mais polar, etanol (308,26 µg/ mL) e para o solvente acetona encontrou um valor de 101,16 µg/ mL. O aumento do número de extrações pode ter contribuído para uma maior atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH.

Embora, a metodologia e matéria-prima utilizada pelos autores se assemelhem à empregada no presente trabalho, os resultados obtidos sugerem um forte potencial antioxidante do extrato analisado para o método de DPPH.

A avaliação da atividade antioxidante não se deve basear apenas em uma única metodologia, sendo necessários outros métodos para caracterizar completamente um composto antioxidante, como o método ABTS (ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico), FRAP (*Ferric-Reducing Ability of Plasma*), TRAP (*Total Radical - Trapping Antioxidant Parameter*) e o β-caroteno/ácido linoleico (OLIVEIRA, 2015).

O método DPPH é adotado normalmente para substâncias de caráter polar. Logo, é necessária a utilização de outro método, como β-caroteno/ácido linoleico destinado para substâncias lipofílicas. A capacidade antioxidante em extratos obtidos por diferentes técnicas pode estar erroneamente estimada pelo método DPPH, devido a reversibilidade da reação de redução desse radical livre, que podem levar a baixas leituras da capacidade antioxidante (BONDET, BRAND-WILLIAMS e BERSSET, 1997).

## 6. CONCLUSÕES

No presente trabalho, foi avaliada a extração com o dióxido de carbono supercrítico e cossolvente nas folhas e caules da Cana do brejo (*Costus spicatus*), utilizando diferentes condições de processo (pressão, temperatura e cossolvente) para obter conhecimento do rendimento e perfil químico, bem como suas curvas de extração. Comparou-se os resultados com as técnicas de baixa pressão, soxhlet e ultrassom, em solventes com polaridades diferentes. Tal comparação ocorreu em termos de rendimento, composição química e atividade antioxidante. Os resultados do presente trabalho possibilitaram algumas conclusões:

- a) A hidrodestilação proporcionou a obtenção do óleo essencial das folhas da Cana do brejo, onde apresentou um rendimento ( $0,01\% \pm 0,62$ ) superior aos obtidos da mesma espécie na literatura. A composição química do óleo essencial apresentou dois compostos majoritários: ácido palmítico (38,51%) e fitol (13,42%).
- b) Na extração utilizando solventes, o extrato obtido com uso do solvente de menor índice de polaridade, hexano, foi favorecido pelo uso da técnica ultrassom em relação à técnica soxhlet. Isso aconteceu para folhas e caules da *Costus spicatus*. Esse comportamento foi inverso ao utilizar o solvente etanol, onde a técnica soxhlet obteve maior rendimento em relação ao ultrassom. Também foi possível observar que os solventes orgânicos influenciaram na porcentagem dos constituintes majoritários.
- c) A análise dos resultados dos testes preliminares permitiu observar que a pressão, temperatura e cossolvente interferiram no rendimento e na seletividade dos compostos extraídos. O tempo de extração foi fixado em 120 min. A composição química por CG-MS obteve compostos de grande relevância, constatada na literatura.
- d) Com relação a técnica de alta pressão, confirmou-se que o uso de solvente polar aumenta a densidade da mistura e ocasiona aumento no rendimento. Esse comportamento aconteceu nas folhas e caules da *Costus spicatus*, onde foi observado o maior rendimento ao utilizar a condição de processo (140bar e 50°C) com máximo volume de cossolvente (20%). O menor rendimento foi obtido nessas mesmas condições, porém, sem adição de cossolvente (0%), confirmando a influência positiva desta variável.
- e) Também foi possível observar que as curvas de extração das folhas e caules da *Costus spicatus* apresentaram um comportamento típico das curvas de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. O tempo de extração por 120 min foi suficiente para atingir a taxa de extração nula.

- f)** Os parâmetros operacionais da extração supercrítica interferiram na composição química dos extratos obtidos. O planejamento experimental aplicado nas folhas permitiu verificar o Ácido linolênico, Friedelin e Ácido palmítico como compostos majoritários (compostos com atividade anti-inflamatória comprovada). Já nos caules, os compostos majoritários foram Sitosterol, Stigmasterol e Ácido palmítico (compostos com ação de controle glicêmico). Deste modo, verificou-se que os extratos das folhas da Cana do brejo podem ser usados para fins curativos, aliviando sintomas de problemas inflamatórios, como pedra nos rins. Já os extratos dos caules, podem ser empregados nos tratamentos de doenças com diabetes, ou seja, conferindo propriedades antidiabéticas.
- g)** Em termos de rendimento, as técnicas/solventes com melhor rendimento para as folhas da *Costus spicatus* foram: soxhlet com etanol (6,17%), extração supercrítica com cossolvente (4,12%) e ultrassom com etanol (3,86%). Para os caules, as melhores técnicas/solventes foram: soxhlet com etanol (5,06%), ultrassom com etanol (2,37%) e extração supercrítica com cossolvente (1,69%). Com relação a composição química, os compostos Friedelin e Fitol, que foram identificados apenas nos extratos hexânico e etanólico, respectivamente, foram verificados nos extratos supercríticos das folhas da Cana do brejo, conferindo a este extrato um amplo potencial de aplicação, devido as suas importantes atividades biológicas, como antiulcerogênica (Friedelin) e anticâncer (Fitol). Com relação ao extrato supercrítico do caule, os compostos Sitosterol, Stigmasterol, Friedelin e Fitol foram encontrados apenas nos extratos obtidos pela técnica de alta pressão, diferenciando o extrato supercrítico e fornecendo um potencial de aplicação diferente dos extratos obtidos pelas técnicas de baixa pressão. Além disso, o extrato supercrítico apresentou frações mais elevadas nos compostos majoritários, caracterizando uma maior seletividade nos compostos extraíveis das folhas e caules da *Costus spicatus*.
- h)** Com relação a avaliação da atividade antioxidante, não foi possível detectar atividade pelo método do sequestro do radical livre DPPH nos extratos obtidos pelas técnicas de CO<sub>2</sub> supercrítico, soxhlet/etanol e ultrassom/etanol. Normalmente, esse método é adotado para substâncias de caráter polar. Deste modo, as folhas e caules da Cana do brejo devem apresentar compostos de menor polaridade, tornando-se necessária a utilização de outro método para avaliar a comprovação da atividade. Além disso, a capacidade antioxidante nos extratos estudados pode estar erroneamente estimada pelo



método DPPH, devido a reversibilidade da reação de redução desse radical livre, que podem levar a baixas leituras da capacidade antioxidante.

Este trabalho apresenta caráter inédito, pois é relatado pela primeira vez a extração da *Costus spicatus* pela técnica de CO<sub>2</sub> supercrítico e a composição química do seu extrato. Resumidamente, em termos de rendimento, as técnicas/solventes com melhor rendimento para as folhas da *Costus spicatus* foram: soxhlet com etanol, extração supercrítica com cossolvente e ultrassom com etanol. Para os caules foram: soxhlet com etanol, ultrassom com etanol e extração supercrítica com cossolvente. Além disso, constatou-se que dentre as técnicas/solventes, o extrato supercrítico apresentou uma maior seletividade nos compostos extraíveis das folhas e caules da *Costus spicatus*.

As curvas de extração, tanto para as folhas, quanto para os caules, apresentaram um comportamento típico das curvas de extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. Com relação a composição química das folhas obtidas a partir do planejamento experimental, observou-se que o Ácido linolênico, Friedelin e Ácido palmítico foram os compostos majoritários. Já nos caules, os compostos majoritários foram Sitosterol, Stigmasterol e Ácido palmítico. Dessa forma, foi possível observar que as folhas e caules da *Costus spicatus* extraídos pela técnica de CO<sub>2</sub> supercrítico e cossolvente possuem constituintes que podem ser potenciais candidatos ao desenvolvimento de novas formulações e formas farmacêuticas, podendo ser empregados para o tratamento de diferentes enfermidades, especialmente, aquelas relacionadas aos processos inflamatórios e antidiabéticos.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados apresentados no presente estudo, algumas sugestões são dadas para dar continuidade em trabalhos futuros:

- Estimar o teor de cera presente nos extratos de CO<sub>2</sub> supercrítico com adição de cossolvente;
- Realizar extrações convencionais com a utilização de misturas de solventes, visando o aumento da recuperação de compostos fenólicos;
- Testar a atividade antioxidante por outros métodos, como o  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico;
- Determinar um modelo matemático a partir das curvas de extração de dióxido de carbono supercrítico com adição de cossolvente;
- Avaliar a atividade anti-inflamatória e antidiabética dos extratos obtidos por CO<sub>2</sub> supercrítico para as folhas e caules da *Costus spicatus*, respectivamente.

## REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, M. N.; MAJINDA, R. R. T. GC-MS analysis and preliminary antimicrobial activity of *Albizia adianthifolia* (Schumach) and *Pterocarpus angolensis* (DC). *Medicines*, v.3, n.3; DOI:10.3390/medicines3010003, 2016.
- ACOSTA, E. D. Reaproveitamento de resíduos de itaúba (*Mezilaurus itauba*) por meio de extração com CO<sub>2</sub> em estado supercrítico. Dissertação (mestrado). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2013.
- 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 arabica* L.). Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2011.
- ANDRADE, S. F.; COMUNELLO, E.; NOLDIN, V. F.; MONACHE, F. D.; FILHO, V. C.; NIERO, R. Antiulcerogenic activity of fractions and 3,15-dioxo-21 $\alpha$ -hydroxy friedelane isolated from maytenus robusta (celastraceae). *Arch Pharm Res*, v. 31, n.1, p. 41-46, 2008.
- ARAUCO, M. Obtenção e separação de compostos bioativos de *Schinus terebinthifolius raddi* em meio supercrítico e avaliação da atividade citotóxica em células leucêmicas. Tese (Doutorado). Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC, 2013.
- AZEVEDO, L.F.P.; FARIA, T.S.A.; PESSANHA, F.F.; ARAUJO, M.F.; LEMOS, G.C.S. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n. 2, p. 209-215, 2014.
- AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering*, v. 117, n.4, p. 426-436, 2013.
- BAJPAI, V.K., BAEK, K.H., KANG, S.C. Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review. *Food Res. Int.* 45, p. 722–734, 2012.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.* n. 46, p. 446–475, 2008.
- BANARAS, S.; JAVAID, A.; SHOAIB.; AHMED.; Antifungal activity os *Cirsium arvense* extracts against phytopathogenic fungus *macrophomina phaseolina*. *Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (SBCPD)*, v. 35, ISSN: 1806-9681, 2016.
- BARRETO, T. L. P. Estudos dos efeitos biológicos do extrato aquoso da *Costus spicatus*. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.
- BARROSO, M. S. T. Estudo sobre processos de obtenção de extratos de achyrocline satureioides (lam) dc. e sua potencialidade na perfumaria. Dissertação (mestrado), Programa

de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA), Porto Alegre, 2011.

BATISTA, R. B. et al. Caracterização bioquímica e cinética de lipoxigenases de plantas de soja submetidas à aplicação de ácidos graxos poliinsaturados. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1517-1524, 2002.

BERBER, A.; ZENGIN, G.; AKTUMSEK, A.; SANDA, M. A.; UYSAL, T. Antioxidant capacity and fatty acid composition of different parts of *Adenocarpus complicatus* (Fabaceae) from Turkey. *Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744)*, v. 62, p. 337-346, 2014.

BENELLI, P. Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração. Dissertação (mestrado), Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2010.

BISCAIA, D. Comparação entre tecnologia supercrítica e técnicas convencionais de extração para obtenção de extratos de própolis avaliados através de suas atividades biológicas. Florianópolis: UFSC, 2007. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2007.

BITENCOURT, A. P. R., ALMEIDA, S. S. M. S. Estudo fitoquímico, toxicológico e microbiológico das folhas de *Costus spicatus* Jacq. *Biota Amazônia*. v. 4, n. 4, p. 75-79, 2014.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and Mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *LWT - Food Science and Technology*, v. 30, Issue 6, p. 609-615, 1997.

BOONE, C. V. Estudo químico do óleo essencial das raízes de *Piper amalago*. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2011.

BORGES, P. M. O. Avaliação da atividade tóxica e do perfil fitoquímico de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*. Trabalho de conclusão do curso (Licenciatura em Química), Coordenação de Química, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Anápolis, 2016.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G. VIANNA, C. M. de M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. *Revista Ciência e Saúde Coletiva – OPINIÃO*, p. 2675 – 2685, 2012.

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

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. *Journal of Food Engineering*, v. 67, p. 21-33, 2005.

CHEN, F. YANG, X. MA, Y. WANG, X. LUO, D. YANG, L. YANG, Y. Synthesis and application of novel silver magnetic amino silicone adhesive particles for preparation of high purity  $\alpha$ -linolenic acid from tree peony seed oil under applied magnetic field. *Journal of Chromatography A*, v.1610, p.460-540, 2020.

- CHHOUK, K.; WAHYUDIONO.; KANDA, H.; GOTO, M. Efficacy of supercritical carbon dioxide integrated hydrothermal extraction of Khmer medicinal plants with potential pharmaceutical activity. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v.6, p. 2944–2956, 2018.
- CITADIN, D. G. Avaliação dos bioativos existentes da *Drimys angustifolia* Miers e *Cunila galioides* Benth, plantas oriundas da Mata Atlântica, Floresta Ombrófila Mista. Tese (Doutor em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis – SC, 2018.
- CORRÊA, A. J. C. Contribuição do conhecimento popular para a descoberta de novos antimicrobianos. Tese (Doutor em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2018.
- CORREA, M. S. Extração de inflorescência da bababeira (*Musa paradisiaca* L.) utilizando CO<sub>2</sub> supercrítico e propano comprimido. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos), Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.
- COSTA, F. M. Extração de compostos bioativos de folhas de *Vernonia amygdalina* Delile utilizando dióxido de carbono em condições supercríticas. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2015.
- DANDEKAR, R.; FEGADE, B.; BRASKAR, V. H. GC-MS analysis of phytoconstituents in alcohol extract of *Epiphyllum oxypetalum* leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, v. 4, p. 149-154, 2015.
- DE SOUZA, A.M.; LARA, L.D.; PREVIATO, J.O.; LOPES, A.G.; CARUSO-NEVES, C.; DA SILVA, B.P.; PARENTE, J.P. Modulation of sodium pumps by steroidal saponins. *Zeitschrift Fur Naturforschung C - A Journal of Biosciences*, v.59, p.432-436, 2004.
- FERNANDES, C. S.; LIMA, M. P.; HANADA, R. E.; SILVA, J. D. Avaliação química e das atividades antifúngica e citotóxica de plantas tradicionalmente descritas como medicinais. XII Jornada de Iniciação Científica do PIBIC/INPA/CNPq, Manaus-AM, 2003.
- FERRO, D. M.; MAZZUTTI, S.; VITALI, L.; MULLER, C. M. O.; FERREIRA, S. R. S. Integrated extraction approach to increase the recovery of antioxidant compounds from *Sida rhombifolia* leaves. *The Journal of Supercritical Fluids*, p. 10-19, 2019.
- FILIPPI, R. P. d. CO<sub>2</sub> as a solvent: application to fats, oils and other materials. *Chemistry and Industry*, p. 390–394, 1982.
- FROHLICH, P. C.; SANTOS, K. A.; CARDOZO-FILHO, L. SILVA, E. A. Obtenção do extrato das folhas de cravo da índia (*Syzygium aromaticum*) com CO<sub>2</sub> supercrítico e adição dos cossolventes etanol e acetato de etila. *Revista ensaios pioneiros*, 2018.
- GANESAN, D.; SIVAMANI, G. Phytochemical analysis of leaf extract of plant *Costus spicatus* by GCMS method. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. n. 5, p. 24-26, 2015.

GUINDANI, C. Emprego da tecnologia supercrítica para a valorização do resíduo de semente de chia (*salvia hispânica*). Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Florianópolis - SC, 2014.

HALL, R. M. Recuperação de extratos ricos em compostos bioativos da semente de mamão (*Carica papaya* L.) por extração supercrítica e por líquido pressurizado. Dissertação (Mestre em Engenharia de alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2018.

HANNAY, J. B.; HOGARTH, J. On the solubility of solids in gases. Proc. Roy. Soc. (London), v. 29, p. 324-326, 1879

KITZBERGER, C. Obtenção de extrato de cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) com CO<sub>2</sub> a alta pressão. Dissertação (mestre). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2005.

LAURININO, T. N. S. Avaliação do potencial do extrato e do óleo essencial de Palo santo (*Bursera graveolens*) para aplicação em produtos inseticidas. Dissertação (mestrado), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2017.

LEAL, P. A. Estudo comparativo entre os custos de manufatura e as propriedades funcionais dos óleos voláteis obtidos por extração supercrítica e destilação por arraste de vapor. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2008.

LIMA, R. S.; FERREIRA, S. R. S.; VITALI, L. BLOCK, J. M. May the superfruit red guava and its processing wast be a potential ingredient in functional food. Food Research International. V. 115, p. 452-459, 2019.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, Edição 2, p. 222. 2002.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. Trends in Analytical Chemistry, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

MARANGONI, A. Extração de rotenona com fluido em estado supercrítico em escala industrial. Centro tecnológico. Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis – SC, 2011.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. Metabolitos secundários e propriedades medicinais de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. eM. *aquifolium* Mart.). Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.9, n.3, p.89-99, 2007.

MELECCHI, M. I. S. Caracterização química de extratos de *Hibiscustiliaceus* L: Estudo comparativo de métodos de extração. Porto Alegre: UFRGS, 2005. Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.

MEZZOMO, N.; MILEO, B. R.; FRIEDRICH, M. T.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil: Process yield and extract composition. *Bioresource Technology*, v.101(14), p. 5622-32, 2010.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro. Brasília, 2011.

MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. Farmacobotânica: aspectos teóricos e aplicações. ISBN: 9788582714416, Editora Artmed, 2017.

MOYLER, D. A. Extraction of essential oils with carbon dioxide. *Flavour and fragrance journal*, v. 8, p. 235-247, 1993.

NIST. LINSTROM, P. J.; MALLARD W. G.; Eds., NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, 2011.

ODEH, I. C.; TOR-ANYIIN, T. A.; IGOLI, J. O.; ANYAM, J. V. In vitro antimicrobial properties of friedelan-3-one from *Pterocarpus santalinoides* L'Herit, ex Dc. *African Journal of Biotechnology*, v.15, p. 531-538, 2016.

OLIVEIRA, D. A. Caracterização fitoquímica e biológica de extratos obtidos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) das variedades *merlot* e *syrah*. Dissertação (mestrado) – Centro tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

OLIVEIRA, G. C. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais do município de Alagoa Nova – PB. Trabalho de conclusão de curso (graduação em biologia), Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campina Grande, 2012.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.17, n.1, p.36-44, 2015.

PANDA, S.; JAFRI, M.; KAR, A.; MEHETA, B. K. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monisperma*. *Fitoterapia*, p. 123-126, 2009.

PEDROSA, D. M. Análise de perfil químico e investigação dos potenciais antioxidantes, antibacteriano e citotóxico *in vitro* de extratos obtidos do caule de *Costus spicatus* Swartz (Costaceae). Trabalho de conclusão de curso (grau de Farmacêutico), Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2017.

PIES, G. Tecnologia supercrítica aplicada à obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos a partir de casca de jabuticaba *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. Dissertação (Mestre em Engenharia de alimentos), Programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2017.

PRABHADEVI, V.; SAHAYA SATHISH, S.; JOHNSON, M.; VENKATRAMANI, B.; JANAKIRAMAN, N. Phytochemical studies on *Allamanda cathartica* L. using GC-MS. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, p. 550-554, 2012.

REIS, P. M. C. Extração e avaliação do potencial antioxidante dos extratos obtidos da semente do tamarindo doce (*Tamarindus indica*). Dissertação (mestre em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

REGNAULT-ROGER, C., VINCENT, C., ARNASON, J.T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Ann. Rev. Entomol*, n, 57, p. 405–424, 2012.

ROMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. *Química nova*, v. 29, nº 4, p. 755-760, 2006.

REYNERTSON, K. A.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant potential of seven Myrtaceous fruits. *Ethnobotany Research & Applications*, v.3, p. 025-035, 2005.

ROSSO COMIM, S. R.; MADELLA, K.; OLIVEIRA, J. V.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction from dried banana peel (*Musa spp.*, genomic group AAB): Extraction yield, mathematical modeling, economical analysis and phase equilibria. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 54, p. 30-37, 2010.

ROSSO, S. R. Aproveitamento do resíduo da agroindústria da banana: caracterização química e levantamento de parâmetros termodinâmicos. Dissertação (mestrado). Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2009.

SANTESTEVAN, V. A. Desenvolvimento de metodologia para a análise de óleo de arroz. Dissertação (Mestre em Química), Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

SANTOS, A. B.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – EMBRAPA. Comunicado técnico, n. 99, ISSN 1517-2244, Bélem, 2004.

SANTOS, D. N. Extração com dióxido de carbono supercrítico e estudo da composição dos extratos de sementes de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.). Dissertação (Mestre em Ciências), Faculdade de zootecnia e Engenharia de alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

SANTOS, P.; AGUIAR, A. C.; BARBERO, G. F.; REZENDE, C. A.; MARTINEZ, J. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2015.

SANTOS, K. R., R. Caracterização química e avaliação da atividade fungicida dos óleos essenciais de quatorze espécies vegetais frente ao *Fusarium solanif.sp. piperis* e *Thielaviopsis paradoxa*. Dissertação (mestrado), Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo, 2019.

SANTOS, R. A., ANDREÃO, A., ANDREÃO, P. S. S., NASCIMENTO, I. A. Caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Costus spiralis*. Sociedade Brasileira de Química. 2011.



Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil (SMSDC). Manual de Cultivo de Plantas Medicinais. Subgerência do Programa de Plantas Medicinais e Fitoterapia. Gerencia do Programa de Práticas Integrativas e Complementares. Rio de Janeiro: SMSDC, 2011.

SARTOR, R. B. Modelagem, Simulação e Otimização de uma Unidade Industrial de Extração de Óleos Essenciais por Arraste a Vapor. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos). Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

SERRA, A. T.; MATIAS, A.A.; ALMEIDA, A. P. C.; BRONZE, M. R.; ALVES, P. M.; SOUSA, H. C.; DUARTE, C. M. M. Processing cherries (*prunusavium*) using supercritical fluid technology. part 1: Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 55, n. 1, p. 184 – 191, 2010.

SERVIÇO FLORESTAL BRASILEIRO. Inventario Florestal Nacional: principais resultados: Santa Catarina. Brasília, DF: MMA, 2018. 106 p. (Série Relatórios Técnicos – IFN). Disponível em: <<http://www.florestal.gov.br/documentos/informacoes-florestais/inventario-florestal-nacional-ifn/resultados-ifn/3656-relatorio-ifn-sc-2017/file>>. Acesso em: 29/Abr/2019.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES FLORESTAIS (SNIF). V. 1, edição 2, 2018. Disponível em: <<http://www.florestal.gov.br/documentos/publicacoes/4092-boletim-snif-2018-ed1/file>>. Acesso em: 29/Abr/2019.

SILVA, A. F.; SANTOS, A. P.; RABELO, M. F. R. Identificação botânica das plantas medicinais. *Informe agropecuária*, v. 31, n. 255, p. 77, Belo Horizonte, 2010.

SILVA, C. M. A. Metabólitos secundários de plantas dos semi-árido de Pernambuco – uma inovação no controle de fitopatógenos. Dissertação de mestrado (mestre) – Título de mestre em Bioquímica e Fisiologia Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SILVA, D. N.; GONÇALVES, M.J.; AMORAL, M.T.; BATISTA, M.T. Antifungal activity of a flavonoid-rich fraction from *Costus spicatus* leaves against dermatophytes. *Planta Medica*, v.74, n.9, p. 961-961, 2008.

SILVA, F. C.; DUARTE, L.P.; VIEIRA FILHO, S. A. Celastráceas: fontes de triterpenos pentacíclicos com potencial atividade biológica. *Revista virtual química*, v.6, n. 5, p. 1205-1220, 2014.

SILVA, M. G. F. Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Química – Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.

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

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A., PETROVIK, P. R. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. Editora UFRGS. Porto Alegre, 2010.

SIQUEIRA, D. S.; PEREIRA, A. L.; NETO, F. R. A. Determinação de compostos de massa molecular alta em folhas de plantas da Amazônia. Química Nova, v. 26, n. 5, p. 633-640, 2003.

SOARES, N. P., SANTOS, P. L., VIEIRA, V. DE S., PIMENTA, V. DE S. C., ARAÚJO, E. G. DE. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.24; p. 2016 991, 2016.

SOUZA, D.R; RODRIGUES, E. C. A. M. S. Plantas medicinais: indicação de raizeiros para o tratamento de feridas. Revista Brasileira em Promoção da Saúde, v. 29, nº 2, p. 198-203, Fortaleza, 2016.

STEFFANI, E. Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolífera* Fujita) utilizando CO<sub>2</sub>. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

TAYLOR, L. T. Supercritical Fluid Extraction. New York: John Wiley & Sons, 1996.

TEIXEIRA, L. H.; BEZERRA, M. M.; CHAVES, H. V.; VAL, D. R.; FILHO, S. M. P.; SILVA, A. A. R. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais no município de Sobral-Ceará, Brasil. Sanare, Sobral, v. 13, n. 1, p. 23-28, 2014.

ULIANA, M. P.; DA SILVA, A. G.; FRONZA, M. SCHDRER, R. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Costus spicatus* swartz usede in folk medicine for urinary tract infection in Brazil. Latin American Journal of Pharmacy, v. 34, n.4, p. 766-72, 2015.

VIERA, V. B. Compostos bioativos, atividade antioxidante e antimicrobiana na casca de cebola roxa (*Allium cepa* L.) submetidos a diferentes métodos de extração. Tese de doutorado. Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia dos alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, 2016.

WANG, H. C.; CHEN, C. R.; CHANG, C. J. Carbon dioxide extraction of ginseng root hair oil and ginsenosides. Food Chemistry, v. 72, p. 505-509, 2001.

ZHAO, S. ZHANG, D. Supercritical fluid extraction and characterization of *Moringa oleifera* leaves oil. Separation and Purification Technology, n.118, p. 497–502, 2013.