



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

Deise Parolo Tramontin

Extração de compostos bioativos de sementes de *Artocarpus heterophyllus*:
experimentação e modelagem matemática

Florianópolis

2020

Deise Parolo Tramontin

Extração de compostos bioativos de sementes de *Artocarpus heterophyllus*:
experimentação e modelagem matemática

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Química da Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do título de Doutora em
Engenharia Química.
Orientador: Prof. Marinho Bastos Quadri, Dr.
Coorientador: Prof. Ariovaldo Bolzan, Dr.

Florianópolis

2020

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

Tramontin, Deise Parolo

Extração de compostos bioativos de sementes de
Artocarpus heterophyllus : experimentação e modelagem
matemática / Deise Parolo Tramontin ; orientador, Marinho
Bastos Quadri, coorientador, Ariovaldo Bolzan, 2020.
148 p.

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

Inclui referências.

1. Engenharia Química. 2. Compostos Bioativos. 3.
Extração. 4. Artocarpus heterophyllus. 5. Fluido
supercrítico. I. Quadri, Marinho Bastos. II. Bolzan,
Ariovaldo. III. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Deise Parolo Tramontin

Extração de compostos bioativos de sementes de *Artocarpus heterophyllus*:
experimentação e modelagem matemática

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

Alessandra Marangoni, Dra.
Mattoso extratos naturais Ltda

Prof. André Wüst Zibetti, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Cristiano José de Andrade, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Toni Jefferson Lopes, Dr.
Universidade Federal do Rio Grande

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

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Marinho Bastos Quadri, Dr.
Orientador(a)

Florianópolis, 2020.

Dedico este trabalho aos meus pais, pois eles acreditaram em mim e me ajudaram a realizar mais uma etapa desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à Deus, que é o responsável por tudo o que acontece. E pela maneira como acontecem as ações que guiam nossas vidas;

Ao meu orientador Marinho Bastos Quadri e coorientador Ariovaldo Bolzan, por me orientar assiduamente e me conduzir inúmeras vezes pelo caminho, quando eu não conseguia mais seguir em frente;

Ao Departamento de Engenharia Química e de Alimentos (EQA) por toda prestatividade e pela estrutura disponibilizada;

À CAPES pelo apoio financeiro;

Aos meus pais, Anísio Tramontin e Albertina Parolo Tramontin que me ensinaram decidir entre o certo e o errado e buscar o que realmente desejo, além de lutar pelas minhas convicções seguindo o caminho da verdade e da integridade.

Ao Santiago Cadena por me compreender, me ajudar, me motivar e compartilhar momentos únicos ao longo desta caminhada;

A minha irmã Diele Tramontin, meu cunhado Rodrigo Savi e aos bebês Fred e Balu, que sempre alegram a família;

À minha avó, que está passando por um momento muito difícil, mas que esteve ao meu lado e que será sempre lembrada;

Aos meus demais familiares, por todo carinho e preocupação;

Aos colegas de laboratório que além da companhia diária tornam este momento enriquecedor e colaboram no processo de crescimento pessoal e profissional;

À todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho e à todos aqueles que torceram/torcem por mim.

Muito Obrigada!

A matemática é o alfabeto que Deus
usou para escrever o Universo.

(Galileu Galilei, 1564-1642)

RESUMO

Artocarpus heterophyllus é uma planta originária da Índia, que se encontra distribuída em países tropicais como o Brasil. A jaca é a fruta desta planta, sua massa pode variar de 3,5 a 10 kg e suas sementes representam de 8 a 15 % de sua massa total. A maior parte desta fruta (80 a 85 %) não é aproveitada como alimento, tornando-se resíduo. Este estudo teve como objetivo determinar se sementes de jaca podem ser fonte de compostos com atividade biológica. Foram obtidos extratos aplicando técnicas de alta pressão (extração com CO₂ supercrítico) e de baixa pressão (Soxhlet e maceração). A fim de determinar a composição dos extratos, inicialmente fez-se um planejamento experimental Plackett-Burmann, avaliando as condições operacionais (temperatura, pressão, vazão de CO₂, tempo estático e relação mássica de cossolvente-etanol) para determinar as variáveis de maior influência na extração e o perfil químico relativo mediante análises de cromatografia gasosa acoplada a espectro de massa. A partir destes resultados, fez-se um planejamento experimental de delineamento de composto central com as variáveis de maior influência na extração (temperatura, pressão e vazão de CO₂) para determinar as melhores condições de extração para o rendimento total, rendimento de triterpenos e esteróis. A atividade biológica foi analisada através de testes *in vitro* para quantificação de compostos fenólicos, atividade antioxidante (ABTS e DPPH), antimicrobiana, fotoprotetora, anti-inflamatória e citotoxicidade. Foram obtidas curvas dinâmicas de extração a fim de realizar a modelagem matemática e simulação numérica do processo. A extração Soxhlet com etanol apresentou os melhores resultados para capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e compostos fenólicos) e atividade fotoprotetora. Os melhores resultados para atividade antifúngica foram obtidos a partir da extração com CO₂ supercrítico. Não foi identificada atividade antibacteriana nos extratos até 1000 µg mL⁻¹. Não foi detectada citotoxicidade com o aumento da concentração de 50 para 100 µg mL⁻¹ de extrato para extrações Soxhlet e maceração com etanol. O ensaio de atividade anti-inflamatória evidenciou que a maioria dos extratos foram capazes de inibir a ação inflamatória induzida nas células RAW 264.7 na concentração de 30 µg mL⁻¹. O perfil químico relativo indicou que os compostos com maior proporção no extrato foram 13,27-cicloursan-3-one, 9,19-cicloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimetil-, acetato, (3β, 4α, 5α) e lanosterol. As melhores condições de extração com CO₂ supercrítico para esteróis e triterpenos foram 38 °C/22 MPa e 52 °C/10 MPa, respectivamente. A modelagem matemática permitiu determinar os coeficientes de difusão, resistências interna e externa, identificar os fenômenos dominantes durante a extração e a influência do diâmetro de partícula no processo. O modelo matemático fenomenológico apresentou um bom ajuste aos dados experimentais. Os resultados obtidos justificam a pesquisa das propriedades da semente de jaca para obtenção de produtos naturais para as indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética.

Palavras-chave: Extração supercrítica. *Artocarpus heterophyllus*. Triterpenos. Esteróis. Atividade biológica. Modelagem matemática.

ABSTRACT

Artocarpus heterophyllus is a plant originally from India, which is distributed in tropical countries such as Brazil. The jackfruit is the fruit of this plant, its weight can vary from 3.5 to 10 kg and its seeds represent 8 to 15% of total mass. Most of this fruit (80 to 85%) is not used as food, becoming waste. This study aimed to determine whether jackfruit seeds can be a source of compounds with biological activity. Extracts were obtained using high pressure (extraction with supercritical CO₂) and low pressure techniques (Soxhlet and maceration). In order to determine the composition of the extracts, a Plackett-Burmann experimental planning was initially carried out, evaluating the operational conditions (temperature, pressure, CO₂ flow rate, static time and mass ratio of cosolvent-ethanol) determining the variables with the greatest influence in extraction process; then the relative chemical profile was determined by means of gas chromatography analysis coupled to mass spectrum (GC-MS). From these results, a central composite design (CCD) was applied using the variables with the greatest influence on extraction (temperature, pressure and CO₂ flow rate) in order to determine the best extraction conditions for total yield, triterpenes and sterols yield. The biological activity was analyzed using *in vitro* tests to quantify: phenolic compounds, antioxidant activity (ABTS and DPPH), antimicrobial, photoprotective, anti-inflammatory and cytotoxicity. Dynamic extraction curves were obtained for the mathematical modeling and numerical simulation of the process was performed. The Soxhlet extraction with ethanol showed the best results for antioxidant capacity (DPPH, ABTS and phenolic compounds) and photoprotective activity. The best results for antifungal activity were obtained for extracts from supercritical CO₂. No antibacterial activity was identified for extracts up to 1000 µg mL⁻¹. Cytotoxicity was not detected, even when increasing the extract concentration from 50 to 100 µg mL⁻¹, for Soxhlet and maceration extracts using ethanol. The anti-inflammatory activity test showed that most extracts were able to inhibit the inflammatory action induced in RAW 264.7 cells at a concentration of 30 µg mL⁻¹. The relative chemical profile indicated that the compounds with the highest proportion in the extract were 13,27-cycloursan-3-one, 9,19cycloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3β, 4α, 5α) and lanosterol. The best extraction conditions with supercritical CO₂ for sterols and triterpenes were 38 °C/22 MPa and 52 °C/10 MPa, respectively. The mathematical modeling allowed determining the diffusion coefficients, internal and external resistances, identifying the dominant phenomena during the extraction and the influence of the particle diameter in the process. The phenomenological mathematical model presented a good fit to the experimental data. The results obtained justify further research of the jackfruit seed properties as a source of natural compounds for the pharmaceutical, food and cosmetic industries.

Keywords: Supercritical extraction. *Artocarpus heterophyllus*. Triterpenes. Sterols. Biological activity. Mathematical modeling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Artocarpus heterophyllus</i> L. (a) Folhas. (b) Jaqueira. (c) Sementes. (d) Jacas. (e) Jaca. (f) Gomos	33
Figura 2 - Diagrama de fases para substância pura	37
Figura 3 - Diagrama de fases de uma mistura ternária	38
Figura 4 - Curva geral de extração de um processo supercrítico.....	43
Figura 5 - Fluxograma das principais etapas metodológicas	49
Figura 6 - Etapas de preparação das amostras.....	50
Figura 7 - Diagrama do processo de ESC	52
Figura 8 - Gráfico de Pareto do rendimento global (η_{Total}) da ESC em função fatores	76
Figura 9 - Gráfico de Pareto para comparação da atuação dos fatores sobre as classes de compostos extraídos. (a) Triterpenos. (b) Esteróis	80
Figura 10 - Efeitos sobre a extração de triterpenos: (a) Vazão e cossolvente. (b) Temperatura e cossolvente. (c) Pressão e tempo estático. (d) Cossolvente e tempo estático	81
Figura 11 - Efeitos sobre a extração de esteróis: (a) Vazão e cossolvente. (b) Temperatura e cossolvente. (c) Pressão e tempo estático. (d) Cossolvente e tempo estático	82
Figura 12 - Análise de superfície de resposta para temperatura e pressão, mantendo constante a vazão de CO ₂ em 3,5 mL min ⁻¹ . (a) Rendimento total da extração (η_{Total}). (b) Rendimento global de esteróis ($\eta_{TotalEsteróis}$). (c) Rendimento global de triterpenos ($\eta_{TotalTriterpenos}$)	89
Figura 13 - Resíduos dos dados experimentais do planejamento CCD. (a) Rendimento total da extração (η_{Total}). (b) Rendimento global de esteróis ($\eta_{TotalEsteróis}$). (c) Rendimento global de triterpenos ($\eta_{TotalTriterpenos}$).....	90
Figura 14 - (a) Análise espectrofotométrica do comportamento dos extratos e dos padrões utilizados para absorção da luz UV. (b) Fator de proteção solar (FPS) calculados para os extratos	94
Figura 15 - Citotoxicidade dos extratos de SJ determinados pelo método colorimétrico do reagente MTT para células L929.....	99
Figura 16 - Avaliação da inibição de NO através da aplicação de extratos de SJ obtidos de TCE e ESC.....	100
Figura 17 - Número de mols extraídos acumulados em função do tempo com diferentes malhas empregadas para 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3 β , 4 α , 5 α) na condição 50 °C/20 MPa/4 mL min ⁻¹	102
Figura 18 - Malha normal gerada para a célula de extração	103
Figura 19 – Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3 β , 4 α , 5 α)	104
Figura 20 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer no interior da coluna. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	106

Figura 21 - Redução da concentração média dos compostos no centro da partícula qualquer ao longo do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)	107
Figura 22 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α).....	108
Figura 23 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	109
Figura 24 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	111
Figura 25 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	113
Figura 26 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)	114
Figura 27 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo no interior da coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α).....	115
Figura 28 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α);	116
Figura 29 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	118
Figura 30 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	120
Figura 31 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo no interior da coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α).....	121
Figura 32 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3 β , 4 α , 5 α).....	122
Figura 33 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)	123
Figura 34 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	125

Figura 35 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	126
Figura 36 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo no interior da coluna. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α).....	128
Figura 37 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α).....	128
Figura 38 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α);.....	129
Figura 39 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α);	131
Figura 40 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)	132
Figura 41 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo no interior da coluna. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α);.....	134
Figura 42 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer em função do tempo. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α);	134
Figura 43 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a)13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α).....	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Comparação entre métodos de atividade antioxidante e compostos fenólicos obtidos de SJ	35
Tabela 2 - Temperatura crítica (T_c) e Pressão crítica (P_c) para compostos puros	39
Tabela 3 - Plantas e processos de extração em escala comercial utilizando CO_2 supercrítico	42
Tabela 4 - Resumo dos principais efeitos das variáveis de entrada estudadas na ESC e consequências nos fenômenos envolvidos no processo	45
Tabela 5 - Lista de experimentos do planejamento Plackett-Burman	54
Tabela 6 - Fatores e codificações de níveis	55
Tabela 7 - Lista de experimentos do planejamento do tipo composto central	56
Tabela 8 - Fatores do planejamento CCD e codificações de níveis	56
Tabela 9 - Caracterização das partículas e do leito de extração	74
Tabela 10 - Rendimento global (η_{Total}) para TCE	74
Tabela 11 - Rendimento global (η_{Total}) das extrações para o planejamento experimental 1 – Plackett-Burman	76
Tabela 12 - Porcentagem de área dos compostos identificados nas TCE e ESC	78
Tabela 13 - Porcentagem de área relativa dos compostos identificados por GC/MS separados por classes	79
Tabela 14 - Resultados de rendimento η_{Total} , $\eta_{TotalTriterpenos}$ e $\eta_{TotalEsteróis}$ para TCE e ESC	88
Tabela 15 - Coeficiente de regressão (CR) e valores de p para o modelo de η_{Total} , $\eta_{TotalEsteróis}$ e $\eta_{TotalTriterpenos}$ para extração com fluido supercrítico de SJ	89
Tabela 16 - Compostos fenólicos totais (CFT), potencial antioxidante obtidos por ABTS e DPPH de extrato de SJ	93
Tabela 17 - Concentração Inibitória Mínima (CMI) dos extratos de SJ para fungos	97
Tabela 18 - Resumo dos principais resultados experimentais	101
Tabela 19- Dados de adequação das curvas simuladas	102
Tabela 20 - Condições operacionais e do fluido	104
Tabela 21 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa	110
Tabela 22 - Condições operacionais e do fluido	110
Tabela 23 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa	117
Tabela 24 - Condições operacionais e do fluido	117
Tabela 25 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa	124
Tabela 26 - Condições operacionais e do fluido	125
Tabela 27 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa	130
Tabela 28 - Condições operacionais e do fluido	131
Tabela 29 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa	136

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABTS - 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic ácido)
- AEAC - Capacidade antioxidante equivalente de ácido ascórbico
- AOAC - *Association of official analytical chemist*
- ATCC - *American Type Culture Collection*
- BCRJ - Banco de Células do Rio de Janeiro
- C - CEREMIC
- CCD – *Central composite design*/Delineamento composto central
- CER - *Constant Extraction Rate*/Taxa constante de extração
- CFC – Clorofluorcarbonos
- CFT - Compostos Fenólicos totais
- CL - *Control lab*
- CMI - Concentração mínima inibitória
- DMSO - Dimetilsulfóxido
- DPPH – 1,1-diphenil-2-picrilhidrazil
- EAG - Equivalente de ácido gálico
- EMT - bis-ethylhexiloxifenol methoxifenil triazina
- EROs - Espécies reativas de oxigênio
- ESC - Extração supercrítica
- EtOH – Etanol
- FC - Fator de correção
- FER - *Falling Extraction Rate*/Taxa de redução da extração
- FPS - Fator de Proteção Solar
- FSC - Fluido supercrítico
- GC/MS - *Gas chromatography - mass spectrometry*/Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas
- GC/IT-MS - *Gas Chromatography – ion trap mass spectrometry*/Cromatografia gasosa acoplada a um detector de íons com espectrômetro de massas
- HEX - Hexano
- HPLC/DAD - *High-performance liquid chromatography with diode array detection*/Cromatografia líquida de alta pressão acoplada a um detector de matriz de diodos
- LER/DC - *Low Extraction Rate-Diffusion-Controlled*/Taxa de extração baixa –Controlada pela difusão

LPS - Lipopolissacarídeo
MAC – Maceração
MEMD - Meio Essencial Mínimo Dulbecco's
MHA - Mueller-Hinton Agar
MTT - (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-zil)-2,5-difeniltetrazolium])
na - Não apresenta
ni - Não identificado
NO - Óxido Nítrico
PC - Ponto crítico
P_c - Pressão crítica
PT - Ponto Triplo
RSM – *Response surface methodology*/Metodologia de superfície de resposta
SC- CO₂ - Dióxido de carbono supercrítico
SDA - Sabouraud Dextrose Agar
SFB - Soro Fetal Bovino
SJ - Semente de jaca
SOX – Soxhlet
TCE - Técnicas convencionais de extração
T_c - Temperatura crítica
TE - Trolox equivalente
TNCE - Técnicas não convencionais de extração
TR - Tempo de retenção
UV - Radiação ultravioleta que compreende a região 190-400 nm
UVB - Radiação ultravioleta que compreende a região 290-320 nm

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descrição	Unidade
$Umidade_{(bs)}$	Teor de umidade em relação à massa de sólido seca	%
$m_{inicial}$	Massa inicial de amostra	g
m_{ss}	Massa de sólido seco (livre de umidade)	g
$m_{amostra(bu)}$	Massa de amostra em base úmida	g
V_{ext}	Volume do extrator	cm ³
ε	Porosidade do leito	-
ρ_b	Massa específica do leito	kg m ⁻³
ρ_{pe}	Massa específica da partícula	kg m ⁻³
α	Parâmetro de rotabilidade	
f	Número de fatores associado ao planejamento experimental	
Y	Resposta preditiva do modelo estatístico	
X_P	Variável independente de pressão	
X_T	Variável independente de temperatura	
X_{CO_2}	Variável independente de vazão de CO ₂	
β_j	Coefficientes lineares	
β_{ii}	Coefficientes quadráticos	
β_{ij}	Coefficientes interativos	
R^2	Coefficiente de determinação	
R_{adj}^2	Coefficiente de determinação ajustado	
η_i	Rendimento global da extração ou rendimento total para triterpenos ou esteróis	mg g ⁻¹
m_i	Massa de extrato, triterpenos ou esteróis	mg
$EE(\lambda)$	Efeito eritema da radiação solar em cada comprimento de onda λ	
$I(\lambda)$	Intensidade da luz solar no comprimento de onda λ	
$Abs(\lambda)$	Leitura espectrofotométrica da absorbância da amostra cada comprimento de onda	
C_i	Concentração do componente i na fase fluida	mol m ⁻³
$C_{pe,i}$	Concentração do componente i na partícula	mol m ⁻³
t	Tempo	s
u	Vetor velocidade	m s ⁻¹
$D_{e,i}$	Coefficiente de difusão efetiva	m ² s ⁻¹

τ	Tortuosidade	-
$D_{F,i}$	Difusividade molecular do fluido	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
N	Número de partículas por unidade de volume de leito	$N_{\text{partícula}} \text{m}^{-3}$
r	Coordenada radial adimensional que vai de 0 (centro) para 1 (superfície da partícula)	-
r_{pe}	Raio da partícula	m
ε_{pe}	Porosidade da partícula	-
$D_{pe,i}$	Coefficiente de difusão na partícula	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
$D_{peff,i}$	Coefficiente de difusão efetivo na partícula	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
$N_{i,int}$	Fluxo molar no fluido livre no interior da partícula	$\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$
S_b	Área superficial exposta para fluxo de fluido livre no leito de partículas	$\text{m}^2 \text{m}^{-3}$
d	Comprimento característico	m
Dif	Difusividade de massa do componente i no fluido	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
h_D	Coefficiente de transferência de massa	m s^{-1}
Sh	Número de Sherwood	-
Sc	Número de Schmidt	-
Re	Número de Reynolds	-
μ	Viscosidade dinâmica da mistura	kg (m s)^{-1}
v_s	Velocidade superficial do fluido	m s^{-1}
d_p	Diâmetro de partícula	m
ρ_l	Massa específica do fluido	kg m^{-3}
D_m	Dispersão mecânica	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$
L	Distância de transporte longitudinal	m
V_x	Velocidade intestinal	m s^{-1}
P	Pressão	Pa
I	Vetor unitário	-
T	Operação de transposição	-
k	Permeabilidade do meio poroso	m^2
n	Vetor normal	-
P_0	Pressão relativa	Pa
$n_{Atotais}$	Número de mols do componente i no leito de extração	mol

c_A	Concentração do componente A no poro da partícula	mol m^{-3}
$C_{pe\acute{m}edc_A}$	Concentração média do componente A na partícula	mol m^{-3}

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
1.1	OBJETIVOS.....	30
1.1.1	Objetivo Geral	30
1.1.2	Objetivos específicos	30
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
2.1	ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS	31
2.2	JAQUEIRA - <i>Artocarpus heterophyllus</i>	32
2.2.1	Extrato de semente de jaca	33
2.3	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO	35
2.3.1	Técnicas convencionais de extração	35
2.3.2	Técnicas não convencionais de extração	36
2.3.2.1	<i>Extração supercrítica</i>	37
2.3.2.1.1	<i>Uso dos solventes e cossolventes</i>	38
2.3.2.1.2	<i>Vantagens e aplicações</i>	40
2.3.2.1.3	<i>Aplicações Industriais</i>	41
2.3.2.1.4	<i>Curva de extração</i>	42
2.3.2.1.5	<i>Parâmetros Operacionais</i>	44
2.4	MODELAGEM MATEMÁTICA	46
3	MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA	49
3.2	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	50
3.2.1	Teor de umidade	50
3.2.2	Análise granulométrica	50
3.3	TÉCNICAS CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO - (TCE).....	51
3.3.1	Soxhlet (SOX)	51
3.3.2	Maceração (MAC)	51
3.4	EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA - ESC.....	52
3.4.1	Caracterização do leite de partículas	53
3.4.2	Testes preliminares	53
3.4.3	Planejamento Experimental 1 – Análise do perfil químico relativo	54
3.4.4	Planejamento Experimental 2 – Análise do perfil químico quantitativo	55
3.4.4.1	<i>Curvas de extração</i>	57
3.4.4.2	<i>Rendimento de extrato bruto e por componentes</i>	57
3.5	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	58
3.5.1	Perfil químico determinado por GC/MS	58
3.5.2	Atividade biológica dos extratos	59

3.5.2.1	<i>Potencial Antioxidante</i>	59
3.5.2.1.1	<i>Compostos fenólicos totais (CFT)</i>	59
3.5.2.1.2	<i>Método de eliminação do radical livre por DPPH</i>	59
3.5.2.1.3	<i>Método de captura do radical livre ABTS+</i>	60
3.5.2.2	<i>Atividade fotoprotetora</i>	60
3.5.2.3	<i>Atividade antimicrobiana</i>	61
3.5.2.3.1	<i>Micro-organismos e Meios de cultura</i>	61
3.5.2.3.2	<i>Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)</i>	62
3.5.2.4	<i>Viabilidade celular e inibição do nível de NO</i>	62
3.5.2.4.1	Culturas celulares.....	62
3.5.2.4.2	Ensaio de viabilidade celular.....	63
3.5.2.4.3	Redução do nível de produção de nitrito (NO)	63
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	64
3.7	MODELAGEM MATEMÁTICA - ESC.....	64
3.7.1	Estudo dos fenômenos de transporte	65
3.7.1.1	<i>Transferência de massa</i>	65
3.7.1.2	<i>Transferência de quantidade de movimento em meio poroso</i>	68
3.7.2	Concentração interna inicial de soluto	69
3.7.3	Estratégias da modelagem	70
3.7.4	Estudo de malha para simulação numérica	70
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
4.1	PADRONIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	73
4.1.1	Teor de umidade	73
4.1.2	Análise granulométrica	73
4.2	PADRONIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS ...	73
4.3	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO	74
4.3.1	Técnicas convencionais de extração (TCE)	74
4.3.1.1	<i>Rendimento total (η_{Total})</i>	74
4.3.2	ESC - Planejamento experimental 1	75
4.3.2.1	<i>Rendimento total (η_{Total})</i>	75
4.3.3	Perfil químico relativo TCE e ESC	77
4.3.4	ESC - Planejamento Experimental 2	83
4.3.4.1	<i>Ajuste do modelo e análise de dados utilizando RSM</i>	84
4.3.4.1.1	Rendimento global de extração (η_{Total})	84
4.3.4.1.2	Rendimento global de esteróis ($\eta_{TotalEsteróis}$)	85
4.3.4.1.3	Rendimento global de triterpenos ($\eta_{TotalTriterpenos}$).....	86
4.3.4.2	<i>Atividade biológica</i>	91

4.3.4.2.1	Compostos fenólicos totais (CFT).....	91
4.3.4.2.2	Método de captura do radical ABTS ⁺	91
4.3.4.2.3	Método de captura do radical DPPH.....	92
4.3.4.2.4	Fator de proteção solar.....	93
4.3.4.2.5	Atividade antimicrobiana.....	95
4.3.4.2.6	Ensaio de toxicidade celular.....	98
4.3.4.2.7	Inibição da produção de óxido nítrico.....	99
4.4	RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS EXPERIMENTAIS.....	100
4.5	MODELAGEM MATEMÁTICA – ESC.....	101
4.5.1	Modelagem matemática para partículas S1.....	103
4.5.1.1	<i>Modelagem da condição operacional de 12 MPa/40 °C/3 mL min⁻¹.....</i>	<i>104</i>
4.5.1.2	<i>Modelagem da condição operacional de 16 MPa/45 °C/3,5 mL min⁻¹.....</i>	<i>110</i>
4.5.1.3	<i>Modelagem da condição operacional de 20 MPa/50 °C/4,0 mL min⁻¹.....</i>	<i>117</i>
4.5.2	Modelagem matemática para partículas S2.....	124
4.5.2.1	<i>Modelagem da condição operacional de 12 MPa/40 °C/3,0 mL min⁻¹.....</i>	<i>124</i>
4.5.2.2	<i>Modelagem da condição operacional de 20 MPa/50 °C/4,0 mL min⁻¹.....</i>	<i>130</i>
5	CONCLUSÕES.....	137
	REFERÊNCIAS.....	139

1 INTRODUÇÃO

Anualmente são geradas milhares de toneladas de resíduos sólidos, provenientes da atividade doméstica e industrial. Nos últimos anos, o resíduo industrial tem chamado a atenção, porque permite ser reutilizado para alimentação humana, suplementação ou enriquecimento de alimentos. As frutas são consideradas uma fonte interessante neste âmbito, pois podem apresentar propriedades nutracêuticas ou farmacológicas significante a serem estudadas e aplicadas ao cotidiano para a reutilização consciente dos resíduos, de forma a contribuir para o bem-estar das pessoas e o meio ambiente.

A *Artocarpus heterophyllus* é uma planta exótica que se adaptou bem ao clima brasileiro, alcançando elevada produtividade, porém seu consumo não é tão significativo, em muitas regiões do país é por vezes esquecida, devido à oferta de opções mais comuns. Além disso, esta fruta gera uma quantidade considerável de resíduos e as sementes compõem grande porcentagem da sua massa total.

Atualmente, tem-se investido em técnicas modernas de extração, sustentáveis, seletivas, com tempo de extração reduzido e que não exijam pós-processamento das amostras. A extração supercrítica (ESC) apresenta todas estas vantagens e é usada comercialmente em uma série de processos industriais, visando à obtenção de produtos com maior valor agregado.

Considerando este cenário, a atividade biológica dos extratos de sementes de jaca (SJ) tem sido pouco estudada e a extração usando CO₂ supercrítico tem sido objeto de menor escrutínio. Por isso, esta pesquisa se justifica como inédita, pois trata da aplicação de uma técnica de extração, que ainda não foi utilizada para esta matéria-prima, para obtenção de extratos ricos em compostos bioativos com potencial aplicação nas indústrias farmacêutica, cosmética ou alimentícia, além de explorar a modelagem matemática e simulação numérica da extração com CO₂ supercrítico.

O presente trabalho teve como objetivos caracterizar extratos de SJ em alta e baixa pressão, realizar mapeamento das melhores condições de extração, determinar o rendimento global para cada combinação de variáveis. Analisar atividade biológica *in vitro* de cada extrato, especificamente, capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e compostos fenólicos), atividade antimicrobiana visando bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, fungos e leveduras, atividade fotoprotetora, citotoxicidade e atividade anti-inflamatória. Além disso, determinou-se o perfil químico relativo e quantitativo usando GC/MS e mediante metodologia de superfície de resposta buscou-se maximizar o rendimento dos compostos de maior interesse (triterpenos e esteróis). Além do estudo experimental, utilizou-se uma ferramenta computacional para

modelagem e simulação numérica de dados experimentais obtidos a partir de ESC, para avaliar o comportamento das curvas dinâmicas de extração, os fenômenos envolvidos neste processo e determinar os coeficientes de transferência de massa, que são de grande importância no caso de um scale-up do processo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Extrair e identificar compostos bioativos de potencial interesse comercial presentes na semente de *Artocarpus heterophyllus*, aplicando técnicas em baixa e alta pressão, pautando o estudo experimental nos princípios fenomenológicos de transferência de massa para fins de modelagem e melhor domínio das operações envolvidas.

1.1.2 Objetivos específicos

Avaliar se a ESC é uma técnica que pode apresentar melhores resultados perante as técnicas convencionais de extração para a obtenção de compostos bioativos de semente de jaca;

Avaliar se a técnica ESC apresenta vantagens em termos de rendimento global e seletividade perante as técnicas à baixa pressão SOX e MAC;

Avaliar se os extratos obtidos na ESC, SOX e MAC apresentam atividade antioxidante e compostos fenólicos totais;

Avaliar se os extratos obtidos na ESC, SOX e MAC apresentam atividade antibacteriana e antifúngica;

Avaliar se os extratos obtidos na ESC, SOX e MAC apresentam atividade fotoprotetora;

Avaliar se os extratos obtidos na ESC, SOX e MAC apresentam citotoxicidade para células normais;

Avaliar se os extratos obtidos na ESC, SOX e MAC apresentam atividade anti-inflamatória;

Realizar um estudo de modelagem e simulação do processo de extração ESC dos compostos de interesse, para melhor compreensão dos fenômenos envolvidos nesta operação e fazer a validação do modelo por meio dos dados experimentais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção será feita uma breve exposição sobre os principais assuntos relacionados a esta tese, de forma a contextualizar o cenário da pesquisa.

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS E COMPOSTOS BIOATIVOS

Os óleos essenciais têm a sua formação a partir de terpenos, hidrocarbonetos oxigenados, hidrocarbonetos e sesquiterpenos oxigenados. Também podem conter diterpenos e alguns outros compostos específicos como: ácidos graxos e ácidos graxos metil ésteres, corantes, cumarinas, esteróis e flavonas. Desde a antiguidade, os óleos essenciais são obtidos de diversas partes das plantas como: sementes, raízes, flores e folhas usando a chamada hidrodestilação (REVERCHON, 1997).

De acordo com Brusotti et al. (2014) compostos bioativos apresentam uma série de efeitos sobre os organismos vivos, podendo ser encontrados em vegetais, produtos de origem animal ou produzidos sinteticamente. Os autores, ainda, classificam os bioativos em três famílias químicas: alcalóides, terpenóides e compostos fenólicos.

Apesar dos compostos bioativos serem passíveis de produção sintética, busca-se nos dias atuais um estilo de vida mais saudável e uma alimentação baseada em produtos naturais, por isso, observa-se uma tendência crescente a estudos visando à utilização de produtos advindos de plantas, em busca de maior valor agregado (nutracêuticos e fármacos). Dentre os aditivos alimentares com propriedades nutricionais e farmacêuticas, pode-se citar os tocoferóis, carotenóides, alcalóides e ácidos graxos. Além de compostos que visam aplicações mais específicas a partir da matriz vegetal (REVERCHON; De MARCO, 2006).

Embora a prática da extração seja antiga, ainda existem questões que causam interferência na padronização dos extratos, pois a variabilidade geográfica, estação de colheita, morfologia, clima e sistema ecológico podem acarretar variações na constituição do extrato. Ou seja, a mesma planta em outra localização pode apresentar compostos diferentes ou, ainda, diversidade na proporção de cada constituinte. No mais, pode ocorrer inconsistência na coleta, armazenamento e preparação da matéria-prima que eventualmente acarrete alterações nos bioativos (Da SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

Sendo assim, a extração e purificação de compostos naturais ainda apresentam grandes possibilidades de estudos e descobertas, além de novos bioativos e propriedades, o que faz com que seu estudo e aplicação representem hoje um desafio.

2.2 JAQUEIRA - *Artocarpus heterophyllus*

O gênero *Artocarpus*, pertence à família Moraceae, que é constituída por 37 gêneros e cerca de 1.100 espécies. Dentro dos critérios de classificação da *Angiosperm Phylogeny Group-III* (APG-III), encontra-se na ordem Rosales (PEREIRA; KAPLAN, 2013). A *Artocarpus heterophyllus* L. foi introduzida no Brasil pela Coroa Portuguesa no século XVII (PEREIRA; KAPLAN, 2013; WANG et al., 2017).

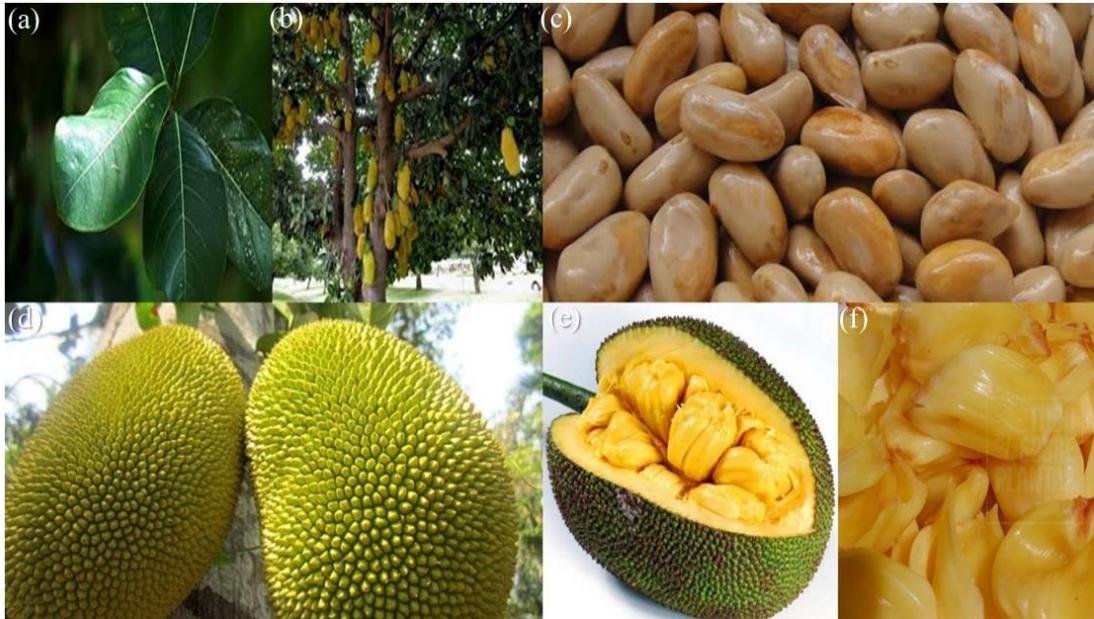
A árvore de *Artocarpus heterophyllus* L. pode chegar a mais de 20 m de altura, teve sua origem na Índia ou Oceania, mas, encontra-se distribuída em países como Brasil, Tailândia, Indonésia, Filipinas e Malásia (MAIA; ANDRADE; ZOGHBI, 2004; SILVA et al., 2007). No Brasil é cultivada principalmente na região amazônica e parte do litoral brasileiro que compreende desde o Estado do Pará até o Rio de Janeiro (SOUZA et al., 2009).

O fruto desta árvore é a jaca (Figura 1). Esta fruta pode atingir a massa de 3,5 a 10 kg, com tamanho de aproximadamente 30 a 40 cm de comprimento e 50 cm de diâmetro. Apesar do seu tamanho, apenas 15 a 20 % da fruta é efetivamente consumida (BALIGA et al., 2011; SWAMI et al., 2012). A consistência de seus gomos pode variar, apresentando coloração amarelada e aroma adocicado. Suas sementes possuem de 2 a 4 cm de comprimento e uma fruta pode conter de 100 a 500 sementes, que representam de 8 a 15 % da massa total da fruta (MADRUGA et al., 2014; SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2006).

Em um levantamento sobre estudos de isolamento e identificação de substâncias referentes ao gênero *Artocarpus*, publicados entre 1907 e 2012, foram identificadas 369 substâncias distintas em 34 espécies. E que os flavonóides compreendem aproximadamente 75 % das substâncias isoladas (WANG et al., 2007 apud PEREIRA; KAPLAN, 2013).

Os extratos de plantas deste gênero têm sido utilizados no tratamento de diabetes, malária, tênia, anemia, asma dermatites. Outros usos incluem ação cicatrizante e expectorante, além de estudos farmacológicos *in vitro* e *in vivo* de agente antibacteriano, antifúngico, antiviral, citotóxico, anti-inflamatório e antioxidante (JAGTAP; BAPAT, 2010; WANG et al., 2017).

Figura 1 - *Artocarpus heterophyllus* L. (a) Folhas. (b) Jaqueira. (c) Sementes. (d) Jacas. (e) Jaca. (f) Gomos



Fonte: (a) Um pé de que (2018); (b) Plantas medicinais brasileiras (2018); (c) Ecycle (2018); (d) Saúde dicas (2018); (e) Sítio da mata (2018); (f) Essas e outras (2018);

Dentre a composição da fruta, frutose e glucose foram identificados como os açúcares de maior proporção. Entre os ácidos graxos encontrados, estão os ácidos cáprico, mirístico, láurico, palmítico, oleico, esteárico, linoleico e araquídico (CHOWDHURY et al., 1997 apud JAGTAP; BAPAT, 2010). E um total de 39 compostos voláteis identificados por GC/MS (MAIA; ANDRADE; ZOGHBI, 2004).

A atividade biológica de plantas do gênero *Artocarpus* pode ser convertida à fitoquímicos de uso nutracêutico e agentes farmacológicos, que podem ser desenvolvidos aumentando o seu valor agregado (JAGTAP; PANASKAR; BAPAT, 2010).

2.2.1 Extrato de semente de jaca

As SJ representam boa parte da massa total da fruta e após a sua retirada não podem ser conservadas por muito tempo. Em alguns casos, são consumidas após o cozimento, embora não seja tão comum. Outra alternativa ao consumo é a produção de farinha a partir das sementes secas (FERNANDES et al., 2017). Seu valor agregado pode ser incrementado com o desenvolvimento de alimentos ou suplementos alimentares a partir de novos estudos (NAGALA; TAMANAM, 2017).

Os principais constituintes das sementes são amido (22 %), proteínas (17,8 a 37 %) e fibras (3,19 %). Contém ainda ligninas, isoflavona e saponinas, que trazem benefícios como:

anticâncer, anti-hipertensivo, antienvelhecimento, antioxidante e antiúlceras. Os constituintes apresentados variam dependendo da fruta a ser analisada (SWAMI et al., 2012; ULLOA et al., 2017).

A literatura apresenta alguns estudos referentes ao extrato da SJ que são citados abaixo.

Ajayi (2008) determinou que o rendimento do extrato de SJ é de 11,39 %, quando extraído via Soxhlet utilizando éter de petróleo. Este extrato foi caracterizado e apresentou boas fontes de elementos minerais como sódio, magnésio, cálcio e razoável quantidade de ferro.

Nagala, Yekula e Tamanam (2013) utilizaram a técnica de extração Soxhlet com solvente hexano e determinaram a atividade antioxidante e fenólica total do óleo de 5 variedades de sementes do gênero *Artocarpus* e pelo tempo de retenção em cromatografia gasosa (GC) foi possível determinar que os principais compostos identificados foram: tetradecano, metil decanoato e metil dodecanoato.

Nagala e Tamanam (2017) estudaram a extração por meio de Soxhlet com metanol de cinco variedades do gênero *Artocarpus* e determinaram por GC/MS a presença de quinze fitoconstituintes.

Nagala e Tamanam (2016) realizaram um estudo semelhante ao anterior, utilizando hexano como solvente e com o uso de GC/MS determinaram a presença de cinco componentes: metil-9,9,10,10-4-octadecanoato, metil octadecanoato (ácido octadecanoico), 9-ácido octadecenoico[Z] – metil éster (ácido oleico), 9,12-octadecadienoico (ácido linoleico), Z,E-3,13-octadecadien-1-ol.

Fernandes et al. (2017) estudaram o perfil químico da SJ e seus estudos compreenderam os ácidos orgânicos, aminoácidos, componentes fenólicos, carotenoides e esteróis, que foram analisados a partir de cromatografia líquida de alta pressão acoplada a um detector de matriz de diodos (HPLC/DAD), identificando 29 metabólitos primários e 17 ácidos graxos. Por meio da cromatografia gasosa acoplada a um detector de íons com espectrômetro de massa (GC/IT-MS) foram identificados 17 compostos fenólicos.

Nagala, Rapaka e Tamanam (2015) estudaram o efeito dos extratos de SJ obtidos por Soxhlet com hexano e metanol. O extrato hexanóico apresentou bons resultados para ação antibacteriana dos seguintes micro-organismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*; entre os fungos, os melhores resultados foram apresentados aos seguintes micro-organismos: *Aspergillus flavans*, *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. Neste mesmo estudo, foi testado também o extrato metanóico, os melhores resultados da ação antibacteriana foram para: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*; a ação antifúngica com melhores resultados foi para: *Aspergillus flavans*,

Candida albicans. O mesmo estudo evidenciou que os resultados apresentados foram diferentes com relação ao solvente utilizado, devido à extração de diferentes compostos. Os autores atribuíram seus resultados de agente antimicrobiano e de ação inibitória aos ácidos graxos que são reconhecidos pelo seu potencial e também alguns fitoquímicos como alcalóides, flavonoides, saponinas e taninos, como alguns autores apresentaram para outras matrizes vegetais.

Nagala, Yekula e Tamanam (2013), Shanmugapriya et al. (2011), Shrikanta, Kumar e Govindaswamy (2013) bem como Soong e Barlow (2004) estudaram a atividade antioxidante, polifenóis totais e os flavonóides totais de SJ (Tabela 1) utilizando técnicas e solventes diferentes em cada caso, sendo assim, os resultados não são passíveis de comparação, mas, pode-se constatar apenas qualitativamente a sua existência, evidenciando sua possível utilização.

Tabela 1 - Comparação entre métodos de atividade antioxidante e compostos fenólicos obtidos de SJ

Autor/ano	Método de extração	Solvente	Polifenóis totais	Flavonoides totais	Atividade Antioxidante		
					DPPH	FRAP	ABTS
Soon e Barlow, (2004)	Soxhlet	Etanol:Água (50:50 v/v)	27,7±3,4 GAE (mg g ⁻¹)	na	na	2,8±0,3 AEAC (µmol g ⁻¹)	7,4±2,0 AEAC (µmol g ⁻¹)
		Etanol	4,16±0,01 (mg g ⁻¹)	4,05±0,01 (mg g ⁻¹)	300 (µg mL ⁻¹)	na	290 (µg mL ⁻¹)
Shanmugapriya et al., (2011)	Soxhlet	Acetona	2,3±0,02 (mg g ⁻¹)	2,21±0,02 (mg g ⁻¹)	390 (µg mL ⁻¹)	na	380 (µg mL ⁻¹)
		Acetato de Etila	2,77±0,02 (mg g ⁻¹)	2,67±0,01 (mg g ⁻¹)	490 (µg mL ⁻¹)	na	500 (µg mL ⁻¹)
		Água	1,18±0,01 (mg g ⁻¹)	0,86±0,01 (mg g ⁻¹)	480 (µg mL ⁻¹)	na	480 (µg mL ⁻¹)
Nagala et al., (2013)	Soxhlet	Hexano	na	na	87,4± 0,2 (mg mL ⁻¹)	170±0,1 (µmol g ⁻¹)	na
Shrikanta et al., (2015)	Maceração	Etanol/Água (80:20 v/v)	1,00±0,09 (mg g ⁻¹)	0,61±0,04 (mg g ⁻¹)	6,07±0,605 (mg mL ⁻¹)	na	na

Legenda: na - Não apresenta.

Fonte: Autora

Muitas indicações de uso são encontradas na literatura, porém poucas são efetivamente estudadas. Além do mais, trata-se de uma planta cultivada no Brasil, que não apresenta elevado valor agregado e, por vezes, não é tão apreciada em algumas regiões.

2.3 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

As seções a seguir apresentam uma breve descrição sobre as técnicas de extração que foram empregadas neste estudo.

2.3.1 Técnicas convencionais de extração

As técnicas convencionais de extração são fundamentadas no poder de extração, baseado na polaridade de diferentes solventes ou uma mistura deles, juntamente com a aplicação de calor, para extração de óleos essenciais e compostos bioativos. As técnicas convencionais de maior relevância são: Soxhlet, maceração, decocção, infusão e hidrodestilação (AZMIR et al., 2013).

A extração Soxhlet foi projetada inicialmente para extração de lipídios, atualmente não está mais limitado a esta finalidade. Trata-se de um processo intermitente que utiliza refluxo de solvente, de forma que o material extraído da matéria orgânica se concentra no solvente durante todo o tempo de extração (AZMIR et al., 2013; MELECCHI, 2005).

A maceração consiste no contato direto entre solvente e a matriz vegetal, em recipiente fechado com eventual agitação. Posteriormente, a mistura é filtrada e a fase sólida prensada para recuperar a solução retida na matéria orgânica. Trata-se de um processo não seletivo e é empregado principalmente quando os ativos podem sofrer alteração pelo calor e são solúveis em temperatura ambiente (AZMIR et al., 2013; FONSÊCA, 2005; MELECCHI, 2005).

A eficiência de extração de qualquer técnica convencional depende da escolha do solvente, polaridade do soluto, afinidade molecular entre solvente/soluto e transferência de massa. Além disso, as extrações convencionais exigem maior tempo de extração, evaporação da grande quantidade de solvente, baixa seletividade e decomposição térmica de compostos termo-lábeis em técnicas que usam altas temperaturas (MELECCHI, 2005).

2.3.2 Técnicas não convencionais de extração

Uma das finalidades das técnicas não convencionais de extração é superar limitações como o elevado tempo de extração, emprego de elevadas temperaturas e pós-processamento do extrato. Assim, novas técnicas de extração têm sido desenvolvidas, e as mais promissoras são: extração assistida por ultrassom, extração assistida por micro-ondas, extração assistida por campo elétrico pulsado, extração supercrítica e extração com líquido pressurizado. Algumas destas técnicas são consideradas “verdes”, pois cumprem os padrões estabelecidos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, que incluem a concepção de produtos químicos mais seguros, solventes ou cossolventes que não agridam o meio ambiente, maior eficiência energética, matérias-primas renováveis, redução da degradação dos óleos ou ativos (AZMIR et al., 2013). Dentre as técnicas não convencionais, o foco deste trabalho é a utilização da ESC, que será abordada com maior detalhamento.

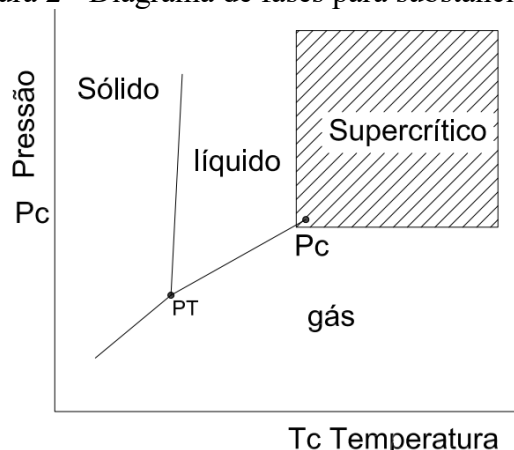
2.3.2.1 Extração supercrítica

A primeira observação da ocorrência do estado supercrítico se deu em 1822 por Baron Cagniard de la Tour, ao perceber que a fronteira gás-líquido de certas substâncias desaparecia com o aumento da temperatura do sistema em recipiente fechado (CARRILHO; TAVARES; LANÇAS, 2001; TAYLOR, 1996). Os primeiros a testar o poder de solvatação de fluidos supercríticos para matrizes sólidas foram Hannay e Hogart em 1879 (TAYLOR, 1996).

Entende-se por um fluido supercrítico (FSC) a mistura gás-líquido que apresenta propriedades intrínsecas de ambas às fases. O ponto onde ocorre a extinção da interface das fases é denominado ponto crítico. FSC é, portanto, toda substância que se encontra em condições de pressão e temperatura superiores aos seus parâmetros críticos (CARRILHO; TAVARES; LANÇAS, 2001).

Um diagrama de fases expõe todos os estados de agregação da matéria em condições variáveis de temperatura e pressão, este pode ser apresentado para substâncias puras (Figura 2) ou mistura (Figura 3). Pontos ao longo das linhas descrevem o equilíbrio entre duas fases. A região crítica tem sua origem no ponto crítico. A temperatura crítica (T_c) define-se pela maior temperatura a qual um gás, pode ser convertido a líquido por incremento da pressão. A pressão crítica (P_c) trata-se da maior pressão a que um líquido pode ser convertido a gás pelo aumento da temperatura do líquido (TAYLOR, 1996). Na região crítica, existe apenas uma fase, que possui propriedades físico-químicas intermediárias àquelas da fase gás e da fase líquida e, muitas vezes, se aproximam às melhores características de cada uma como, por exemplo, a elevada densidade de um líquido e a baixa viscosidade de um gás (CARRILHO; TAVARES; LANÇAS, 2001).

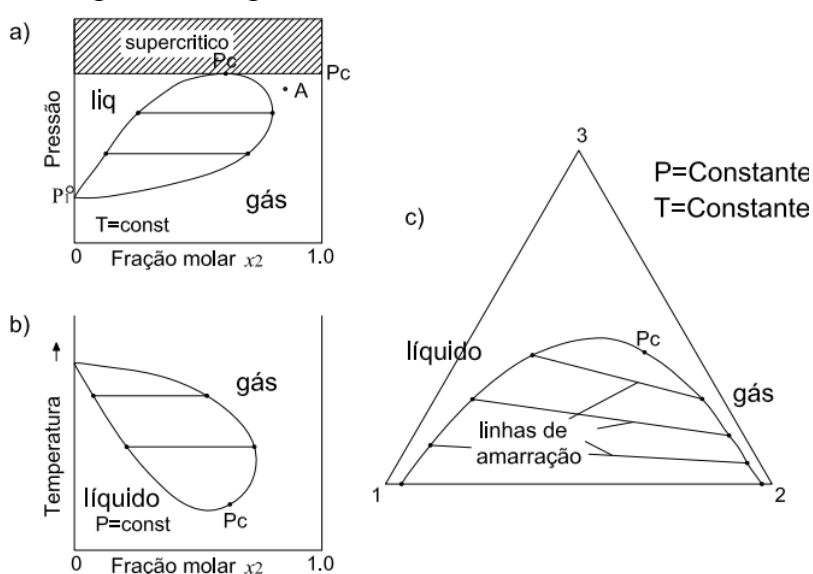
Figura 2 - Diagrama de fases para substância pura



Legenda: PC – Ponto crítico; PT – Ponto triplo; P_c – Pressão crítica; T_c – Temperatura crítica.
Fonte: Brunner (1994)

Em uma mistura de componentes (Figura 3), o estado supercrítico é considerado em relação à pressão, temperatura e composição. Em uma mistura binária à temperatura constante, a pressão é supercrítica para todos os valores superiores ao ponto crítico da mistura. A P_c é sempre o limite superior da área de duas fases a temperatura constante para um sistema binário, em composição constante (a). Não existe analogia que seja relacionada à temperatura, uma vez que em um sistema binário, a pressão constante, a T_c não limita a região de duas fases (b), sendo assim, a área de duas fases pode ultrapassar a T_c (BRUNNER, 1994).

Figura 3 - Diagrama de fases de uma mistura ternária



Legenda: PC – Ponto crítico; P_c – Pressão crítica.

Fonte: Brunner (1994)

Para um sistema ternário com temperatura e pressão constantes (c), o ponto crítico pode estar em um lado da área de duas fases. Em conclusão, para as misturas é mais útil usar a noção de "região em uma fase" ou "região de duas fases" ao invés de "ponto supercrítico" (BRUNNER, 1994).

2.3.2.1.1 Uso dos solventes e cossolventes

Diversos solventes têm sido testados ao longo dos anos para extração em meio supercrítico (Tabela 2), por exemplo, hexano, pentano, butano, óxido nitroso, hexafluoreto de enxofre e hidrocarbonetos fluorados (REVERCHON; De MARCO, 2006). Mas, a faixa de variação de T_c e P_c torna-se muito extensa, e inviabiliza a utilização de muitos solventes.

Tabela 2 - Temperatura crítica (T_c) e Pressão crítica (P_c) para compostos puros

Solvente	T_c [K]	P_c [MPa]	Solvente	T_c [K]	P_c [MPa]
Hélio	5,19	0,23	Ciclopropano	397,85	5,49
Hidrogênio	33,00	1,29	Dimetil éter	400,00	5,24
Neon	44,40	2,76	Amonia	405,55	11,35
Nitrogênio	126,20	3,39	Isobutano	408,20	3,65
Monóxido de carbono	132,90	3,50	n-Butano	425,20	3,80
Argônio	150,75	4,87	metil amina	430,00	7,43
Oxigênio	154,60	5,04	Dióxido de enxofre	430,80	7,88
Óxido nítrico	180,15	6,48	Dietil éter	466,70	3,64
Metano	190,40	4,60	n-Pentano	469,70	3,37
Silano	269,69	4,84	Dietil amina	496,50	3,71
Etileno	282,40	5,04	n-Hexano	507,50	3,01
Xenom	289,70	5,84	Acetona	508,10	4,70
Hexafluoroetano	293,00	3,06	Isopropanol	508,30	4,76
Trifluorometano	299,30	4,86	Metanol	512,60	8,09
Dióxido de carbono	304,15	7,38	Etanol	513,90	6,14
Etano	305,40	4,88	Etil acetato	523,25	3,83
Acetileno	308,30	6,14	n-Heptano	540,30	2,74
Óxido nítrico	309,65	7,24	Acetonitrila	545,50	4,83
Monofluorometano	315,00	5,60	Ciclohexano	553,50	4,07
Propileno	364,95	4,60	Benzeno	562,20	4,89
Clorodifluorometano	369,30	4,97	Tolueno	591,80	4,10
Propano	369,80	4,25	Água	647,30	22,12

Fonte: Brunner (1994)

A escolha e a utilização comum do CO_2 não ocorrem ao acaso, pois este tem propriedades e características que o tornam desejável, dentre as quais:

- Atóxico;
- Não inflamável;
- Não explosivo;
- Parâmetros críticos baixos se comparado aos outros solventes;
- Comercializado em alta pureza;
- Ambientalmente compatível (TAYLOR, 1996).

Além disso, a utilização do CO_2 é desejável, pois é gasoso em temperatura ambiente e se separa do extrato sem a necessidade de uma operação adicional após o processo de extração, podendo ser reciclado e reutilizado, dependendo do equipamento utilizado (BRUNNER, 1994; TAYLOR, 1996).

Apesar das características positivas, o CO_2 apresenta baixa polaridade, conseguindo extrair apenas os compostos apolares da matriz vegetal, devido a isto, faz-se a utilização de modificadores ou cossolventes. Um baixo teor de solvente polar junto ao CO_2 é útil para facilitar a solubilidade dos compostos polares da matriz vegetal (AZMIR et al., 2013).

Diversos cossolventes podem ser utilizados, porém muitos apresentam propriedades não favoráveis com relação à segurança e ao meio ambiente (AZMIR et al., 2013). Dentre aqueles utilizados, o etanol é o mais comum, devido a sua baixa toxicidade e boa miscibilidade em CO₂. Assim como outros solventes, a proporção utilizada deve ser avaliada para que respeite as condições de equilíbrio e mantenha-se na região supercrítica da mistura (TAYLOR, 1996).

2.3.2.1.2 Vantagens e aplicações

A ESC tem vantagens imediatas sobre técnicas tradicionais de extração:

- Seletividade de extração do solvente supercrítico;
- Eliminação de solventes orgânicos;
- Remoção do solvente pela redução de pressão ou elevação de temperatura;
- Ausência da necessidade do pós-processamento do extrato;
- Extração de compostos termosensíveis;
- Menor demanda de calor comparado à destilação;
- Curtos períodos de extração devido à baixa viscosidade do solvente;
- Elevada difusividade e poder de solvatação (REVERCHON; De MARCO, 2006;

TAYLOR, 1996).

O processo de extração conduzido com CO₂ como solvente permite a solubilização de substâncias não polares como os lipídios, gorduras e óleos essenciais (AZMIR et al., 2013). Os óleos essenciais estão parcialmente localizados na parte interna da estrutura vegetal, sua extração é controlada por resistências internas à transferência de massa, sendo extraído juntamente com ceras cuticulares. Conforme ocorre o incremento da pressão, compostos de maior massa molecular, como ácidos graxos tornam-se passíveis de extração (REVERCHON, 1997).

Para melhorar a seletividade do processo de ESC, a separação fracional dos extratos pode ser utilizada mediante extração em sucessivos passos, utilizando pressões crescentes para obter os compostos solúveis contidos na matriz vegetal. A finalidade desta operação é a obtenção da precipitação de diferentes famílias de compostos em função das diferentes condições de saturação no FSC (REVERCHON, 1997; SOVOVÁ, 2012). A única desvantagem da ESC é o elevado custo de implantação, comparado às técnicas convencionais, mas, pode ser viável quando utilizada para obtenção de produtos com alto valor agregado para a indústria alimentícia, farmacêutica e química (REVERCHON; De MARCO, 2006; TAYLOR, 1996).

2.3.2.1.3 Aplicações Industriais

A extração e separação de compostos com FSC apresentou um pequeno interesse de investigação durante a primeira metade do século XX. Em 1936 Wilson, Keith e Haylett desenvolveram um processo de separação do asfalto, obtendo uma separação seletiva de vários subprodutos. Alguns anos depois, Solexol desenvolveu um processo de separação e purificação de óleos vegetais e óleo de peixe utilizando propano como solvente. Em 1970, Kerr McGee Corporation utilizou o processo de extração para remover produtos de baixo ponto de ebulição do resíduo da destilação de petróleo, em que os componentes leves foram obtidos com solvente pentano em temperaturas supercríticas e pressão constante (TAYLOR, 1996).

O desenvolvimento significativo da tecnologia supercrítica aconteceu a partir da patente de Zosel's, que em 1970 reportou a descafeinação do café verde com CO₂. Este processo foi realizado embebendo os grãos na água e depois mergulhando-os em CO₂ supercrítico. Desde 1980, ocorreu um rápido desenvolvimento desta tecnologia para extração de lúpulo, colesterol da manteiga, perfumes, sabores de produtos naturais e ácidos graxos insaturados do óleo de peixe (TAYLOR, 1996).

Em 1990 a associação para o desenvolvimento da tecnologia de FSC, implantou o conceito de tecnologia limpa, conduzindo a substituição dos clorofluorcarbonos (CFC) por fluido supercrítico com solvente dióxido de carbono SC-CO₂. A partir desses eventos, diversos processos industriais (Tabela 3) passaram a ser implementados a partir da tecnologia supercrítica.

Tabela 3 - Plantas e processos de extração em escala comercial utilizando CO₂ supercrítico

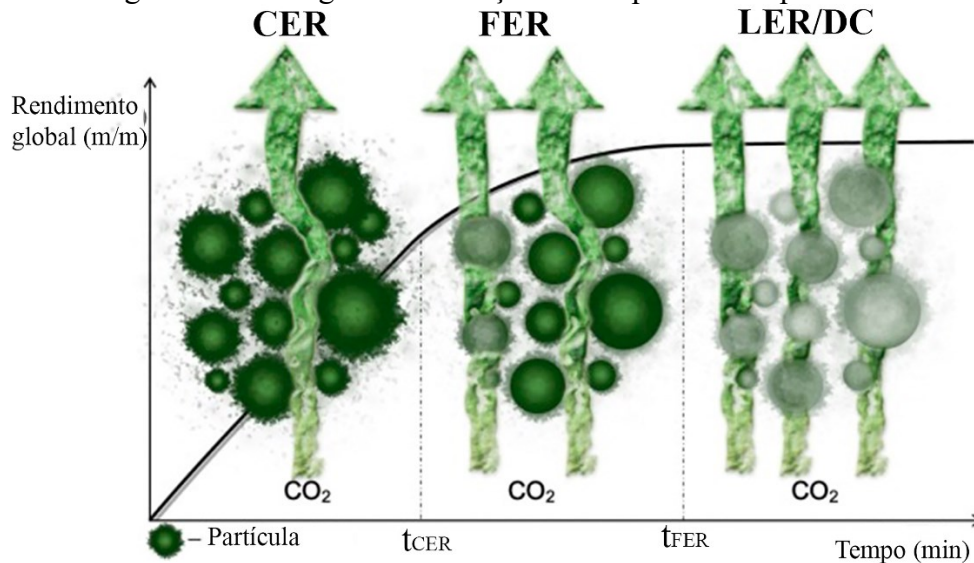
Processo	Fabricante	Local
Descafeinação de café	Kaffee HAG AG	Bremen, Alemanha
	General Foods	Houston, Texas
	Hermesen	Bremen, Alemanha
	SKW-Trostberg	Poszillo, Itália
Descafeinação de chá	Evonik	Alemanha
Descafeinação de chá	SKW-Trostberg	Munchmuenster, Alemanha
	Marbert GmbH	Dusseldorf, Alemanha
Extração de ácidos graxos da cevada	Philip Morris	Hopewell, Virgínia
Extração de nicotina	Hkerr-McGee	Cidade de Oklahoma, Oklahoma
Extração de óleo residual de rosas	Pfizer lúpulo extração	Sydney, Nebraska
	Hopfenextraktion, HVG, Barth, Raiser, & Co.	Wolnzach, Alemanha
	Hops extraction Corp. of America	Yakima, Washington
	J. I. Hass, Inc.,	Yakima, Washington
	Carlton, United Breweries Ltd.,	Melbourn, Austrália
	Boatnix	Reino Unido
Extração de lúpulo e pimenta	SKW-Trostberg	Munchmuenster, Alemanha
	Pauls & White	Reigat, Reino Unido
Extração de Condimentos, Aromas, Pigmentos e produtos naturais	Camili Albert & Louie	Grasse, França
	Flavex GmbH	Rehlingen, Alemanha
	Mohri Oil Mills	Japão
	Mohri Oil Mills	Matsuzaka, Japão
	Fuji Flavor	Japão
	Sumitomo Seiko (Uhde facility)	Japão
	Yasuma (Mitsubishi Kokoki facility)	Japão
	Hasegawa Koryo (Uhde facility)	Japão
	Norac Technologies	Canadá
	Ogawa Flowers and fragrance	Japão
	Sensiet Technologies	EUA
Valensa International	EUA	
Pesticidas Naturais	Agropharm	Reino Unido
Purificação de cortiça	Diam Bouchage	França
	Diament Technology	Espanha
Extração de óleos essenciais	Proderna Biotechnology	Índia e Holanda
	Honsea Sunshine Biotechnology	China

Fonte: Adaptado de Petersen (2017); Taylor (1996)

2.3.2.1.4 Curva de extração

A representação da curva de extração de uma ESC é obtida de um gráfico cujo eixo das ordenadas é o rendimento de extração e o eixo das abscissas é o tempo, a massa de solvente ou a razão mássica de solvente/matéria-prima (SOVOVÁ, 2012). A apresentação destes dados acontece a partir de um gráfico, em que a tendência da curva irá depender dos parâmetros utilizados como a taxa de fluxo do solvente, tamanho das partículas do leite, matriz vegetal e outras configurações, fato este que torna a comparação entre curvas inviável. A curva geral de extração pode ser claramente dividida em três períodos (Figura 4), que são controlados por mecanismos diferentes de transferência de massa (Da SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

Figura 4 - Curva geral de extração de um processo supercrítico



Fonte: Da Silva; Rocha-Santos; Duarte (2016)

Conforme Da Silva, Rocha-Santos e Duarte (2016) os períodos de extração se dividem em:

1 - Período de taxa de extração constante ou *Constant Extraction Rate* (CER): a superfície externa das partículas é coberta com soluto que está acessível e a **convecção** é o mecanismo dominante de transferência de massa;

2 - Período de taxa de extração decrescente ou *Falling Extraction Rate* (FER): a camada externa de óleo começa se esgotar e começa o mecanismo de **difusão**, operando combinado com **convecção**;

3 - Período de baixa taxa de extração ou *Low Extraction Rate/Diffusion-Controlled* (LER/DC): a camada externa de óleo é praticamente extinta e a transferência de massa ocorre principalmente por **difusão** dentro das partículas.

Do ponto de vista prático, a ESC ocorre basicamente em duas etapas: a solubilização dos compostos químicos presentes na matriz sólida e seu arraste para o FSC que é liberado para a atmosfera, na saída do extrator, pela redução de pressão. Porém, vários fenômenos ocorrem simultaneamente na matriz sólida ao longo da extração e deve-se detalhar o que acontece em cada estágio. Primeiramente, a matriz vegetal absorve o FSC, inchando sua estrutura celular e dilatando os canais intercelulares, reduzindo a resistência à transferência de massa; simultaneamente, a solubilização do extrato ocorre e a transferência de massa acontece devido ao gradiente de concentração, do interior da matriz vegetal para sua superfície e, finalmente, para o FSC, de onde é separado naturalmente ao final do processo de extração (BRUNNER, 1994).

Nas extrações conduzidas com CO₂ supercrítico puro, a avaliação do rendimento global sob diferentes condições de temperatura e pressão indicam o efeito da solubilidade dos compostos presentes na matriz vegetal no solvente e de forma indireta, a influência da solubilidade no rendimento global do processo (MAZZUTTI et al., 2012).

O conhecimento dos dados e comportamento da curva de extração e os rendimentos globais são necessários para ampliação de escala e estimativa de custos (DEL VALLE, 2015).

2.3.2.1.5 Parâmetros Operacionais

O processo de extração é baseado na solubilidade dos compostos a serem extraídos da matriz vegetal no SC-CO₂. Em um caso ideal, considera-se que somente os compostos a serem extraídos são solúveis em SC-CO₂, enquanto todos os outros componentes são completamente insolúveis, e os compostos extraídos formam uma mistura complexa ao final do processo de extração. Este caso ideal não existe na prática, mas pode ser trabalhado de forma que exista uma diferença máxima entre a solubilidade dos compostos de interesse e os demais compostos na mistura. Para que isto aconteça, os parâmetros temperatura e pressão devem ser escolhidos com precisão visando a maximização do processo (REVERCHON; De MARCO, 2006).

Além dos parâmetros operacionais citados acima, existe ainda outros que são passíveis de mudanças, como: vazão do solvente, polaridade do solvente; diâmetro de partícula, umidade do leito, tipo de matriz vegetal (folhas, sementes, flores, galhos, casca, polpa), uso de cossolvente, proporção do cossolvente, polaridade do cossolvente e compostos a serem extraídos. Inúmeros são os parâmetros a serem estudados e avaliados. Alguns devem ser mantidos fixos, para entender a interação que ocorre em função das mudanças efetuadas, mas algumas regras gerais podem ser aplicadas (Tabela 4).

Tabela 4 - Resumo dos principais efeitos das variáveis de entrada estudadas na ESC e consequências nos fenômenos envolvidos no processo

Aumento de	Resulta em	Consequência	Impacto no processo
P	$\uparrow \rho$	Maior interação soluto-fluido	++ +
	$\downarrow D$	Piora o transporte de matéria	-
	$\uparrow \mu$	Piora o transporte de matéria	-
T	$\downarrow \rho$	Menor interação soluto-fluido	-- --
	$\uparrow D$	Melhora o transporte de matéria	+
	$\downarrow \mu$	Melhora o transporte de matéria	+
	$\uparrow P^{vap} _{soluto}$	Maior volatilidade dos componentes da mistura	++ +
$\rightarrow \mu_r _{soluto}$	$\downarrow C_s$	Menor massa de soluto por unidade de massa de CO ₂ -SC na saturação	--
Q	$\downarrow \tau$	Menor tempo de contato entre o CO ₂ -SC e a matriz vegetal	--
	$\uparrow u$	Maior força de arraste e taxa de extração	++ +
d_p	$\downarrow a_s$	Piora o acesso do CO ₂ aos compartimentos oleíferos	-- --
	$\downarrow \text{Solute livre}$	Menor taxa de extração inicial (convecção)	--
%CS	$\uparrow \overline{\mu_r} _{solvente}$	Aumenta a solubilidade de compostos polares no FSC, porém diminui a seletividade	++
	mudança no equilíbrio de fases	Pode piorar as propriedades de transporte ou formar mais de uma fase no leito	-
Umidade	mudança no equilíbrio de fases	Formação de duas fases no leito, dificultando o transporte de matéria e diminuindo a vida útil do equipamento devido a possíveis danos	-- --

P: pressão; T: temperatura; a_s : área superficial específica leito; ρ : densidade do solvente; d_p : Tamanho de partícula da matriz vegetal; %CS: porcentagem de cossolvente; $\uparrow \overline{\mu_r}|_{solvente}$: polaridade do solvente; $\uparrow \overline{\mu_r}|_{soluto}$: polaridade do soluto; D: difusividade; $\uparrow \mu$: viscosidade dinâmica; $\uparrow P^{vap}|_{soluto}$: pressão de vapor do soluto; C_s : solubilidade; τ : tempo de residência; u: velocidade média intersticial leito; Q: vazão do solvente;

Fonte: Soares (2017)

Por se tratar de sementes, a ESC requer uma atenção maior com relação a sua estrutura, uma vez que o óleo armazenado em sementes é mantido em cavidades fechadas cujas paredes são relativamente permeáveis. Com o intuito de facilitar o processo de extração utiliza-se um pré-processamento, por exemplo, a moagem da matriz vegetal. Com isso torna-se possível abrir parte das cavidades e aumentar a área interfacial, por onde o solvente irá percorrer. Desta forma, a resistência à transferência de massa interna é relativamente menor assim como o tempo característico de extração. Quando as cavidades permanecem fechadas, a extração acontece mais lentamente e a taxa de extração passa a ser controlada pela difusão interna através das paredes das cavidades. Por estas características particulares do processo de extração e da matriz vegetal, deve-se entender como cada mudança no processo é capaz de influenciar o resultado da extração, pois muitas vezes a alteração de um parâmetro gera um efeito sinérgico que é capaz de implicar o sucesso ou fracasso do processo (SOVOVÁ, 2005).

2.4 MODELAGEM MATEMÁTICA

Ao longo do tempo muitos modelos têm sido propostos para a modelagem matemática da ESC, cada um trazendo suas particularidades e adaptações ou melhorias para representar a extração de óleos essenciais e compostos bioativos de matrizes vegetais.

Segundo Steffani (2003) os modelos apresentados na literatura se dividem em três categorias: empíricos, balanço de massa na fase fluida e balanço de massa na fase sólida, dentre os quais, a terceira abordagem se mostra mais adequada para simular o processo de extração de óleo. Bulley et al. (1984) modelaram a extração de sementes de canola, considerando o soluto na fase fluida e na fase sólida juntamente com uma relação de equilíbrio. Brunner (1984) modelou a descafeinação de grãos crus de café aproximando a solução do modelo a uma equação de primeira ordem. Reverchon, Donsi e Osséo (1993) avaliaram a extração de folhas de alecrim, manjerona e manjerição e incluíram no modelo parâmetros de resistência interna e de filme, devido à natureza das matrizes vegetais estudadas. Goto, Sato e Hirose (1993) abordaram a transferência de massa na partição do composto em duas fases, o mecanismo de adsorção é explicado por uma relação linear de transferência de massa intraparticular e transferência de massa externa. Sovová (1994) procurou incluir o estado físico das partículas do leito de extração, introduzindo o conceito de células abertas e fechadas. Roy, Goto e Hirose (1996) empregaram o modelo de retração de núcleo, que consiste no encolhimento do núcleo da partícula com o andamento da extração a partir da difusão no sólido poroso da matriz vegetal. Reverchon (1996) e Reverchon e Marrone (1997) empregaram um modelo onde a resistência externa à transferência de massa e a dispersão axial foram negligenciadas e aplicaram uma relação linear de equilíbrio para a liberação do soluto, que está presente em duas fases, uma presa à matriz e outra livre. Reis-Vasco et al. (2000) utilizaram um modelo para a dessorção do óleo localizado próximo à superfície da folha e um modelo de resistência à transferência de massa para extração do óleo contido na parte interna da matriz vegetal. Cada um destes modelos contribui para melhorar o entendimento sobre a extração de compostos bioativos nas diferentes matrizes vegetais, visando a obtenção de um processo mais eficiente.

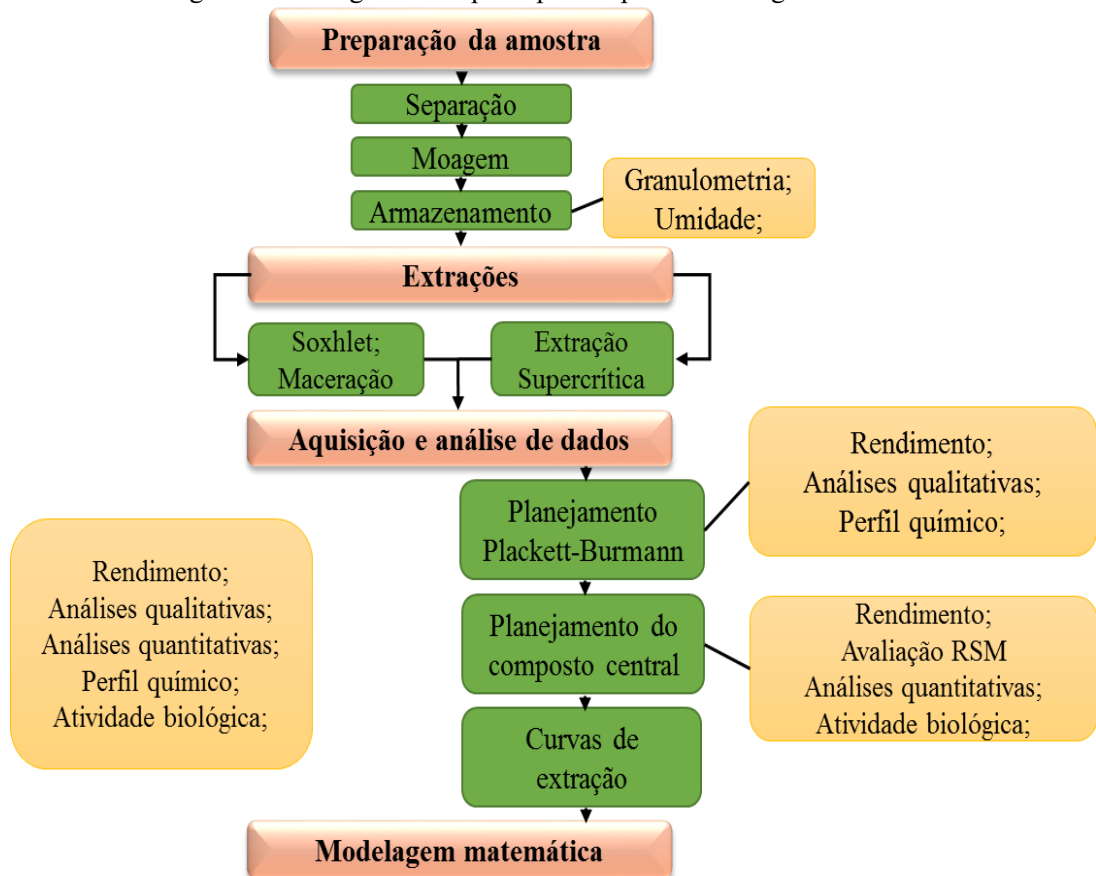
Para a elaboração de um modelo matemático, inicialmente faz-se necessária a observação e a execução de experimentos, buscando entender a fenomenologia envolvida. Da observação surge a notoriedade das leis e pressupostos envolvidos, a partir de então faz-se considerações e adaptações de forma a obter-se a maior aproximação possível entre o modelo e o fenômeno real. A função dos modelos matemáticos é organizar e representar as informações e os dados obtidos experimentalmente. A utilização de um modelo é capaz de reduzir o número

de experimentos necessários, sendo possível fazer um panorama e avaliar o desempenho do sistema em várias condições de operação sem que estas sejam realizadas. Assim, a modelagem matemática se torna uma ferramenta importante para o desenvolvimento de qualquer tipo de processo experimental, reduzindo o tempo e o custo do projeto (ULIANA, 2016).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Nas seções a seguir serão apresentadas as metodologias detalhadas que foram utilizadas para a concepção deste estudo e obtenção dos resultados que serão apresentados. Para melhor entendimento será apresentado um fluxograma prévio com as principais etapas do estudo (Figura 5).

Figura 5 - Fluxograma das principais etapas metodológicas



Fonte: Autora

3.1 PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

As jacas foram adquiridas no mês de janeiro de 2018, em Curitiba/PR. Foram lavadas, suas sementes separadas manualmente e secas em estufa (CE 220/216, Cienlab, Campinas, SP, Brasil) a 35 °C por 96 h. Após, grosseiramente trituradas em moedor liquidificador (RI2008, Philips Walita, Itapevi, SP, Brasil). O núcleo das sementes foi moído juntamente com o tegumento (película que a envolve a semente) evitando o sobreaquecimento. Em seguida foram colocadas na estufa por mais 24 h na mesma temperatura. Decorrido este tempo, a amostra foi

moída novamente (Figura 6) e acondicionada em embalagem plástica, sob condição de vácuo e armazenada em refrigerador doméstico (BRM39, Brastemp, São Bernardo do Campo, SP, Brasil).

Figura 6 - Etapas de preparação das amostras



Fonte: Autora

3.2 PADRONIZAÇÃO DA AMOSTRA

As subseções a seguir tratam da caracterização física das partículas, para padronização dos experimentos.

3.2.1 Teor de umidade

A caracterização do teor de umidade foi conduzida segundo *International Official Methods of Analysis AOAC* (2005) de acordo com o método 925.10. A umidade calculada em base seca foi obtida de acordo com a Equação 1.

$$Umidade_{(bs)} = \frac{m_{inicial} - m_{ss}}{m_{ss}} \times 100 \quad (1)$$

Onde: $Umidade_{(bs)}$ é a umidade da amostra com relação a massa seca de amostra (%), $m_{inicial}$ é a massa da amostra em base úmida (g), m_{ss} é a massa de amostra livre de umidade (g).

3.2.2 Análise granulométrica

A granulometria foi determinada utilizando-se peneiras padrões (a bronziinox, São Paulo, SP, Brasil) com vários tamanhos de malha (0,500 mm, 0,354 mm, 0,250 mm, 0,210 mm, 0,180 mm, 0,105 mm e 0,088 mm). A amostra foi separada em dois grupos, o primeiro com a dispersão granulométrica obtida pelo intervalo da série de peneiras, desprezando o material

retido na peneira 0,088 mm e 0,500 mm (S1), o segundo coletando o material retido na peneira 0,500 mm (S2).

A análise granulométrica foi determinada pelo método diferencial descrito em Gomide (1980), que supõe que todas as partículas retidas em uma mesma malha apresentam seu diâmetro médio representado pela média aritmética das aberturas das malhas entre as quais a fração ficou retida. Dessa forma, o diâmetro médio da amostra é obtido pela média ponderada da fração retida em cada malha.

3.3 TÉCNICAS CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO - (TCE)

Para as extrações via SOX e MAC foram utilizados os solventes: hexano (HEX) 95% (Neon, Suzano, SP, Brasil) ($\rho_{20\text{ }^\circ\text{C}} = 0,659\text{ g/cm}^3$ e $T_{\text{ebulição}} = 68,7\text{ }^\circ\text{C}$) e etanol (EtOH) 99,8% (Neon, Suzano, SP, Brasil) ($\rho_{20\text{ }^\circ\text{C}} = 0,789\text{ g/cm}^3$ e $T_{\text{ebulição}} = 78,4\text{ }^\circ\text{C}$).

Os extratos obtidos foram separados do solvente em evaporador rotativo (R-100, BUCHI, Flawil, St. Gallen, Suíça), utilizando vácuo. A partir destes dados, determinou-se o rendimento de cada técnica de extração, perfil químico relativo e quantitativo, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, antibacteriana, antifúngica, fotoprotetora, anti-inflamatória e citotoxicidade.

3.3.1 Soxhlet (SOX)

O aparato Soxhlet consiste em um condensador Allihn e um extrator com sifão para refluxo do solvente conforme *International Official Methods of Analysis AOAC (2005)*, de acordo com o método 920.39. Envelopes de papel filtro contendo aproximadamente 5 g de amostra foram inseridos no extrator de forma sistematizada. Utilizou-se a proporção mássica de 1:30 (m/m) entre massa de amostra e solvente, este último aquecido com manta até a temperatura de ebulição. A extração foi conduzida por um período de 4 h em triplicata. A massa de extrato foi determinada por gravimetria.

3.3.2 Maceração (MAC)

A maceração foi conduzida seguindo a relação 1:4 (m/v) proposta por Mazzutti et al. (2012). Uma massa de 20 g de SJ foi colocada em um erlenmeyer com 80 mL de solvente. Os

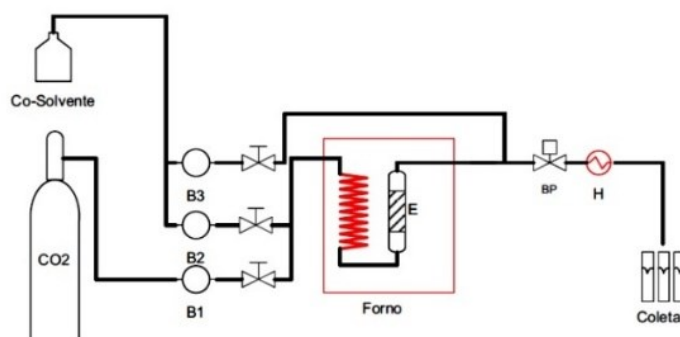
recipientes foram fechados com polietileno e mantidos a temperatura ambiente, durante um período de 168 h. Realizou-se a extração em triplicata, com 3 agitações diárias.

3.4 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA - ESC

Realizou-se o processo em uma unidade laboratorial de extração e cromatografia supercrítica (LC 2000, Jasco, Hachioji, Tóquio, Japão) (Figura 7).

O equipamento funciona da seguinte forma: O dióxido de carbono é mantido a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ por um resfriador (FL-1201, Julabo, Seelbach, Baden-Württemberg, Alemanha) e é alimentado no sistema por meio de uma bomba HPLC de alta pressão (PU-2087/2087 Plus, Jasco, Hachioji, Tokyo, Japão). O vaso extrator contém o material vegetal a ser extraído e se encontra em um forno para manter a temperatura de operação constante. A válvula *backpressure* se mantém fechada até que o sistema seja pressurizado, em seguida a mesma se abre automaticamente para dar início ao fluxo de solvente supercrítico com extrato.

Figura 7 - Diagrama do processo de ESC



Legenda: B1 – Bomba de alta pressão para introdução de CO₂; B2 e B3 – Bombas de alta pressão para introdução de cossolvente/eluente; E – Vaso extrator; BP – Regulador *backpressure*; H – Sistema de aquecimento controlado.

Fonte: Adaptado de Zibetti (2012)

O extrato é arrastado pelo CO₂-SC e passa pela válvula *backpressure*, provocando expansão do solvente, e pelo sistema de aquecimento, que tem a função de aquecer a mistura (CO₂-SC e extrato). Na saída do sistema, o CO₂ é liberado para atmosfera e o extrato é coletado em tubos com tampa.

O CO₂ utilizado é 99,99 % puro (White Martins, Florianópolis, SC, Brasil). Ao final de cada extração, realizou-se a limpeza do sistema utilizando 25 % de EtOH e 75 % de CO₂-SC entre 10 a 20 min com vazão de 5 mL min^{-1} e pressão de 10 MPa, seguida de CO₂-SC puro a 5 mL min^{-1} e 5 MPa entre 10 a 20 min.

3.4.1 Padronização e caracterização do leito de partículas

A massa específica da partícula (ρ_{pe}) foi determinada utilizando picnômetro a hélio (AccuPyc II 1340V1.05, Micromeritics, Norcross, GA, EUA). A massa específica do leito (ρ_b) foi determinada por meio da massa alimentada no extrator, juntamente com o seu respectivo volume, de acordo com a Equação 2. A porosidade foi calculada a partir dos resultados da massa específica da partícula e massa específica do leito, conforme a Equação 3.

$$\rho_b = \frac{m_{amostra(bu)}}{V_{ext}} \quad (2)$$

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_b}{\rho_{pe}} \quad (3)$$

Onde: ρ_b é a massa específica do leito (g cm^{-3}), ρ_{pe} é a massa específica da partícula (g cm^{-3}), $m_{amostra(bu)}$ é a massa da amostra em base úmida alimentada no reator (g), V_{ext} é o volume do extrator (cm^3) e ε é a porosidade do leito.

A porosidade da partícula (ε_{pe}) foi obtida utilizando picnometria a hélio. Inicialmente preparou-se a amostra de SJ para determinar a massa específica do material. Em seguida, realizou-se novamente a picnometria de uma amostra de areia com a mesma distribuição granulométrica, utilizando o mesmo volume da cápsula de medição, que foi utilizado para amostra de sementes. A partir dos valores obtidos, fez-se a diferença entre os resultados, considerando a areia um sólido inerte e de superfície plana, sem qualquer porosidade interna.

3.4.2 Testes preliminares

A fim de observar o comportamento da extração perante a matriz vegetal utilizada, foram feitos testes preliminares variando a vazão de CO_2 e tempo de extração.

Para analisar a vazão de CO_2 mais adequada para o planejamento experimental, mantiveram-se todas as variáveis constantes, modificando-se a vazão e utilizando o rendimento como critério de escolha para a determinação das vazões utilizadas.

Determinada a melhor vazão para o processo, fixou-se esta variável e observou-se o tempo de extração necessário para atingir o estado estacionário da extração.

3.4.3 Planejamento Experimental 1 – Análise do perfil químico relativo

Utilizou-se um planejamento experimental de *screening* (Plackett-Burman) (Tabela 5), para avaliar as variáveis de entrada (temperatura, pressão, vazão de CO₂, vazão de cossolvente (etanol) e tempo estático) de forma a analisar as respostas do sistema para o rendimento global da extração e o perfil químico relativo (baseado na % de área – via GC/MS) de compostos extraídos por ESC objetivando uma resposta precisa e um baixo número de experimentos. Os experimentos foram realizados em duplicata. As propriedades da matriz vegetal e o método de preparação não foram alteradas durante o desenvolvimento experimental.

Tabela 5 - Lista de experimentos do planejamento Plackett-Burman

Experimento	Temperatura	Pressão	Vazão	Concentração de cossolvente	Tempo estático
1	1	-1	1	-1	-1
2	1	1	-1	1	-1
3	-1	1	1	-1	1
4	1	-1	1	1	-1
5	1	1	-1	1	1
6	1	1	1	-1	1
7	-1	1	1	1	-1
8	-1	-1	1	1	1
9	-1	-1	-1	1	1
10	1	-1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	-1	-1
12	-1	-1	-1	-1	-1
13 (C)	0	0	0	0	0
14 (C)	0	0	0	0	0
15 (C)	0	0	0	0	0

Fonte: Autora

Para a composição do planejamento experimental, consideraram-se os fatores e a codificação de níveis (Tabela 6).

Tabela 6 - Fatores e codificações de níveis

		Nível mínimo	Ponto Central	Nível máximo
Codificação dos níveis		-1	0	1
Temperatura	(°C)	40,0	50,0	60,0
Pressão	(MPa)	12,0	16,0	20,0
Vazão CO ₂	(mL min ⁻¹)	3,0	4,0	5,0
Concentração de cossolvente	(% m)	0,0	2,5	5,0
Tempo estático	(h)	0,0	0,5	1,0

Fonte: Autora

Os limites inferiores e superiores referentes a vazão de CO₂ foram determinados a partir de testes preliminares. O cossolvente utilizado nas extrações foi EtOH, que teve seu valor definido mediante porcentagem mássica da vazão de CO₂, optando-se por valores baixos para garantir que a mistura se mantenha em condições supercríticas.

Os resultados deste planejamento experimental foram analisados por meio do gráfico de Pareto e da interação entre dois fatores sobre a variável dependente rendimento, considerando nível de confiança igual 95 %.

3.4.4 Planejamento Experimental 2 – Análise do perfil químico quantitativo

Com o resultado do planejamento experimental 1, fez-se um planejamento experimental tipo delineamento do composto central (CCD) (Tabela 7) para avaliar as respostas referentes ao rendimento da extração e dos compostos de interesse (triterpenos e esteróis). Os fatores de maior influência sobre os triterpenos e os esteróis foram temperatura, pressão e vazão de CO₂. Os experimentos foram realizados em duplicata.

O valor do parâmetro de rotabilidade (α) foi definido como função do número de fatores para o planejamento experimental e está indicado na Equação 4.

$$\alpha = \pm \sqrt[4]{2^f} \quad (4)$$

Onde f é o número de fatores associados ao planejamento experimental.

Tabela 7 - Lista de experimentos do planejamento do tipo composto central

Experimento	Temperatura	Pressão	Vazão de CO ₂
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	-1,68	0	0
10	1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	1,68
15 (C)	0	0	0
16 (C)	0	0	0

Fonte: Autora

Para a composição do planejamento experimental, consideraram-se os fatores e a codificação de níveis (Tabela 8).

Tabela 8 – Fatores do planejamento CCD e codificações de níveis

Variáveis/ Codificação	Níveis mínimos		Ponto central	Níveis máximos	
	$-a$	-1	0	1	a
Temperatura (°C)	37,95	40,00	45,00	50,00	52,07
Pressão (MPa)	10,40	12,00	16,00	20,00	21,60
Vazão de CO ₂ (mL min ⁻¹)	2,70	3,00	3,50	4,00	4,30

Fonte: Autora

Para o planejamento experimental 2 os valores referentes aos fatores foram reconsiderados em função dos resultados obtidos no planejamento experimental 1, para maximizar o rendimento da extração de triterpenos e esteróis.

A análise estatística permitiu identificar as condições que favorecem a extração; determinar os fatores significativos de acordo com o impacto nas variáveis de resposta; descartar condições não significativas do modelo; e avaliar como cada variável independente contribui para o aumento ou redução das variáveis dependentes (MARTINS et al. 2016a). A relação entre cada uma das variáveis dependentes frente aos fatores foi aproximada pelo polinômio quadrático geral (Equação 5).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \times X_P + \beta_2 \times X_T + \beta_3 \times X_{CO_2} + \beta_{11} \times X_P^2 + \beta_{22} \times X_T^2 + \beta_{33} \times X_{CO_2}^2 + \beta_{12} X_P X_T + \beta_{13} X_P X_{CO_2} + \beta_{23} X_T X_{CO_2} \quad (5)$$

Onde: Y representa a resposta preditiva, X_P , X_T e X_{CO_2} se referem à variável independente, pressão, temperatura e vazão de CO_2 , respectivamente, β_j são os coeficientes lineares, β_{ii} são coeficientes quadráticos, β_{ij} são os coeficientes interativos. O Coeficiente de determinação, R^2 , e sua versão ajustada R^2_{adj} foram utilizadas para avaliar a qualidade do ajuste do modelo de regressão.

A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi aplicada às respostas de rendimento global de extrato, rendimento total de triterpenos e esteróis e analisada por meio do software *Statistica* STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

3.4.4.1 *Curvas de extração*

Para a composição das curvas de extração, utilizaram-se os experimentos nas seguintes condições: 40 °C/12MPa/3 mL min⁻¹, 45 °C/ 16MPa/3,5 mL min⁻¹ e 50 °C/20MPa/4 mL min⁻¹. Todas as curvas de extração foram realizadas em triplicata. O tempo de coleta de amostra foi estabelecido pela dinâmica da curva de extração, com menor intervalo de tempo no início da extração para acompanhar o seu desenvolvimento e maior intervalo de tempo ao se aproximar do estado estacionário: de 2 em 2 min até 20 min, de 5 em 5 min até 60 min, de 10 em 10 min até 90 min de 20 em 20 min até 150 min e a última amostra após 30 min, completando 180 min.

As curvas de extração foram obtidas originalmente na forma de extrato bruto. Cada um dos pontos da curva em seu respectivo tempo foi analisado com GC/MS para determinar, por meio do padrão interno, a curva de extração para os compostos de maior fração mássica do extrato. Estas curvas serão empregadas para a modelagem matemática do processo de extração.

3.4.4.2 *Rendimento de extrato bruto e por componentes*

O rendimento global de cada extração foi determinado, assim como o rendimento por componente (Equação 6).

$$\eta_i = \frac{m_i}{m_{ss}} \quad (6)$$

Onde: η_i é rendimento global da extração (η_{Total}) ou rendimento total para triterpenos ($\eta_{TotalTriterpenos}$) ou esteróis ($\eta_{TotalEsteróis}$), sendo representado (mg g^{-1}), ($\text{mg}_{TT} \text{g}^{-1}$) e ($\text{mg}_{SR} \text{g}^{-1}$), m_i é a massa de extrato, triterpenos ou esteróis (mg), m_{ss} é a massa de sólidos secos.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

As seções a seguir tratam da caracterização física dos extratos e da atividade biológica, seguindo metodologia específica e citada no decorrer do texto.

3.5.1 Perfil químico determinado por GC/MS

As análises dos extratos por GC/MS foram realizadas em um equipamento Agilent GC (7890A, Agilent, Santa Clara, CA, EUA) acoplado a um detector MS (5975C MS, Agilent, Santa Clara, CA, EUA). A coluna capilar (HP-5MS, Agilent, Santa Clara, CA, EUA) de sílica fundida (30 m de comprimento \times 250 μm de diâmetro interno \times 0,25 μm de espessura do filme, composta de 5% de fenilmetilpolisiloxano) foi conectada a um detector quadrupolo operando em modo EI a 70 eV. Hélio foi adotado como gás carreador a uma vazão de 0,8 mL min^{-1} . O injetor e a interface (G6502B, Agilent, Santa Clara, CA, EUA) ambos com temperatura de 240 $^{\circ}\text{C}$, com uma razão de *split* de 10:1. O volume de amostra injetado foi de 1 μL . O programa de temperatura do forno consistiu em mantê-la em 80 $^{\circ}\text{C}$ por 1 min, aumentá-la em uma taxa de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até atingir 190 $^{\circ}\text{C}$, em seguida reduzir a taxa de aquecimento para 5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até atingir 300 $^{\circ}\text{C}$ e mantê-la por 15 min. Os compostos foram identificados comparando seus espectros de massa com os fornecidos pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST, 2011).

Para as análises quantitativas, utilizou-se a metodologia de quantificação por padrão interno conforme descrito por Sparkman, Penton e Kitson (2011), utilizando bornil acetato (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) faz-se a contaminação da amostra a ser analisada com o padrão e relaciona-se a sua concentração e porcentagem de área com a porcentagem de área dos compostos da amostra e então estima-se a concentração.

As amostras obtidas na ESC foram diluídas em EtOH grau HPLC a uma concentração próxima a 4,7 mg mL^{-1} . As amostras de SOX e MAC foram enviadas para a análise no próprio solvente de extração.

3.5.2 Atividade biológica dos extratos

A atividade biológica, descrita nas seções a seguir, foi avaliada com o intuito de identificar potencial aplicação dos extratos obtidos.

3.5.2.1 *Potencial Antioxidante*

O potencial antioxidante foi determinado mediante quantificação dos compostos fenólicos, utilizando o método de Folin-Ciocalteu e da quantificação dos antioxidantes com a captura do radical livre pelos métodos DPPH e ABTS.

3.5.2.1.1 Compostos fenólicos totais (CFT)

A determinação dos CFT foi obtida pelo método de Folin-Ciocalteu, baseado na metodologia adaptada de Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999). O meio reacional foi composto por 0,1 mL de extrato em solução com EtOH na concentração de 0,001 g L⁻¹, 7,9 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu. O volume de 1,5 mL de carbonato de sódio a 20 % foi adicionado. Os frascos foram agitados e mantidos por 2 h no escuro.

A redução da absorbância da solução foi medida em espectrofotômetro (800XI, FEMTO, São Paulo, SP, Brasil) em 765 nm. Os CFT foram calculados a partir de uma regressão linear de absorbância a 765 nm e da concentração de ácido gálico entre 0 e 2 mg mL⁻¹ (R² = 0,9936). Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de amostra em base seca (mg EAG g⁻¹ ± desvio padrão).

3.5.2.1.2 Método de eliminação do radical livre por DPPH

A metodologia proposta por Boroski et al. (2015) foi utilizada para avaliar a inibição do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH). Uma alíquota de 25 µL de extrato em concentração conhecida foi misturada com 2 mL de solução de DPPH com concentração de 0,091 mM. A mistura foi mantida durante 30 min a temperatura ambiente e a sua absorbância foi medida num espectrofotômetro (800XI, FEMTO, São Paulo, SP, Brasil) no comprimento de onda de 517 nm.

O potencial antioxidante pelo método DPPH foi calculado a partir de uma regressão linear da absorbância a 517 nm com a concentração de Trolox variando entre 0 - 2 mM (R² =

0,9896). Os resultados foram expressos em μmol de Trolox equivalente por grama de amostra em base seca (μmol de TE $\text{g}^{-1} \pm$ desvio padrão).

3.5.2.1.3 Método de captura do radical livre ABTS+

A metodologia proposta por Re et al. (1999) foi utilizada para avaliar a inibição do radical 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfônico ácido) (ABTS). Preparou-se uma solução aquosa de 7 mM de ABTS e adicionou-se a 88 μL de solução aquosa de persulfato de potássio (140 mM). Esta solução foi armazenada ao abrigo da luz, em temperatura ambiente (25 °C). Após 16 h, uma alíquota do radical foi diluída em EtOH até obter $0,70 \pm 0,05$ de absorvância a 734 nm.

Um volume de 30 μL de extrato foi misturada com 3 mL da solução ABTS e incubadas à temperatura ambiente (25 °C) por 6 min. A absorvância foi medida em espectrofotômetro (800XI, FEMTO, São Paulo, SP, Brasil) com comprimento de onda de 734 nm. A capacidade antioxidante pelo método ABTS foi calculada a partir de uma regressão linear entre absorvância e a variação da concentração de Trolox entre 0 - 2 mM ($R^2 = 0,9963$). Os resultados foram expressos em miligramas de Trolox equivalente por grama de amostra de base seca (mg TE $\text{g}^{-1} \pm$ desvio padrão).

3.5.2.2 Atividade fotoprotetora

Para avaliar o comportamento do extrato de SJ obtido pelas diferentes técnicas de extração perante a exposição à luz UV e calcular o fator de proteção solar (FPS) utilizou-se a metodologia espectrofotométrica *in vitro* adaptada por Mansur et al. (1986).

O extrato foi diluído em EtOH nas concentrações de 0,01 g mL^{-1} , 0,005 g mL^{-1} e 0,0002 g mL^{-1} . Fez-se a varredura da solução em espectrofotômetro (800XI, FEMTO, São Paulo, SP, Brasil) entre 190 a 400 nm, utilizando cubeta de quartzo com passo óptico de 1 cm. O FPS da região UVB foi calculado conforme Equação 7.

$$SPF = FC \sum_{290}^{320} EE(\lambda)I(\lambda)Abs(\lambda) \quad (7)$$

Onde: FC é um fator de correção (igual 10), $EE(\lambda)$ indica o efeito eritema da radiação solar em cada comprimento de onda λ , $I(\lambda)$ significa a intensidade da luz solar no comprimento

de onda λ e Abs (λ) é a leitura espectrofotométrica da absorbância da amostra em cada comprimento de onda. Os valores de efeito do eritema da radiação solar em cada comprimento de onda foram relatados por Sayre et al. (1979). Para comparar os valores obtidos utilizaram-se os padrões dióxido de titânio (TiO₂) e bis-ethylhexiloxifenol methoxifenil triazina (EMT).

3.5.2.3 Atividade antimicrobiana

3.5.2.3.1 Micro-organismos e Meios de cultura

Para determinar a atividade antimicrobiana, utilizaram-se bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e leveduras, incluindo *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 11775), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); *Aspergillus fumigatus* (ATCC 26934), *Epidermophyton floccosum* (C 114), *Microsporium canis* (C 112), *Microsporium gypseum* (C 115), *Rhizopus sp.* (CL 35), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9972) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Essas cepas são referência ao padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC), em Rockville, EUA, e os isolados clínicos foram fornecidos pelo *Centro de Referencia de Micologia CEREMIC* (C) da *Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas*, Rosario, Argentina e *Control Lab* (CL), Rio de Janeiro, Brasil.

O meio de Mueller-Hinton Agar (MHA) foi usado para bactérias, enquanto 4 % de Sabouraud Dextrose Agar (SDA) foi usado para os fungos. Na preparação dos inóculos, removeram-se as células de bactérias e leveduras da cultura pré-ativada com uma alça e suspendendo-as em 10 mL de solução salina estéril. As inoculações dos fungos filamentosos foram preparadas raspando os fungos esporulados das placas de ágar suspendendo-os em solução salina estéril. As suspensões fúngicas foram filtradas através de gaze estéril para remover as hifas. A suspensão de células em água estéril foi ajustada para dar uma concentração final de 1×10^6 a 5×10^6 células mL⁻¹.

3.5.2.3.2 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

O teste CMI dos extratos foi proposto pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2015) e Gasparetto et al. (2017) com algumas modificações. O ensaio foi realizado em tubos slants (1 mL) com bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Uma série de diluições dos extratos foi preparada a partir de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ até 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e misturada com MHA para bactérias e 4 % SDA para fungos. Posteriormente, o volume de suspensão foi adicionado em cada slant, com exceção do controle estéril. Incluídos no ensaio como controle, o agente antibacteriano ciprofloxacino (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) e o agente antifúngico cetoconazol (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EUA). Solução sem extrato também foi usada como controle em branco. Repetiram-se três vezes cada ensaio. O período de incubação foi o seguinte: 18 a 24 horas a 35 °C para bactérias, 24 a 48 horas a 30 °C para leveduras e 5 a 15 dias a 25 °C para fungos filamentosos. O crescimento dos micro-organismos foi seguido após 24 h para as bactérias, 48 h para as leveduras e durante todo o crescimento do fungo controle para os fungos remanescentes. A CMI foi definida como a menor concentração do extrato ou composto (no caso dos controles) capaz de inibir o crescimento dos micro-organismos durante o período de incubação.

3.5.2.4 Viabilidade celular e inibição do nível de NO

As subseções a seguir apresentam as culturas celulares e a metodologia utilizada para os ensaios.

3.5.2.4.1 Culturas celulares

A linhagem celular L929 (fibroblasto de camundongo) foi adquirida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e mantida no Meio Essencial Mínimo Dulbecco's (MEMD), suplementado com 10 % de Soro Fetal Bovino (SFB), 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ de estreptomicina e 100 UI mL^{-1} de penicilina a 37 °C em atmosfera de 5 % de CO_2 . As células foram semeadas em placas de 24 poços na densidade de 1×10^5 células poço⁻¹ até ser alcançada a confluência. Os extratos foram adicionados aos poços da placa na concentração de 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de meio de cultura. Os extratos a seguir foram avaliados com essas células pelo método de viabilidade celular: SOX-EtOH, MAC-EtOH, SOX-HEX, MAC-HEX, ESC1, ESC8 e ESC16. Apenas três experimentos de ESC foram avaliados, considerando os limites inferior, superior e o ponto central.

A linhagem de macrófagos RAW 264.7 foi adquirida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e mantida no Meio Essencial Mínimo Dulbecco's (MEMD), suplementado com 10 % de Soro Fetal Bovino (SFB), $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de estreptomicina e 100 UI mL^{-1} de penicilina a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ em atmosfera de 5 % de CO_2 . Os macrófagos foram submetidos ao ensaio de viabilidade celular e à inibição da produção de NO, a fim de obter um índice do potencial anti-inflamatório. Todos os extratos foram testados com os macrófagos nas condições especificadas.

3.5.2.4.2 Ensaio de viabilidade celular

Realizado de acordo com a metodologia proposta por Van de Loosdrecht et al. (1991). Após 24 h do contato dos extratos com as células, o reagente MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-zil)-2,5-difenil tetrazolium]) foi adicionado a uma concentração final de $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ de meio de cultura e as células foram incubadas por 4 h a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e atmosfera de CO_2 a 5 %. O meio foi então removido e o precipitado foi solubilizado em DMSO (dimetilsulfóxido). A absorbância foi medida no comprimento de onda de 540 nm (Infinity M-200, Tecan, Männedorf, Zurique, Suíça). Assim como os extratos, o meio das células de controle foi suplementado com DMSO a 2,5 %. A absorbância dos poços de controle foi referida como 100 % de viabilidade. A densidade óptica dos outros grupos foi calculada como porcentagem de viabilidade com relação ao controle.

3.5.2.4.3 Redução do nível de produção de nitrito (NO)

As células RAW 264.7 foram semeadas a uma densidade de 5×10^5 células poço⁻¹ em placas de 24 poços e incubadas por 12 h a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e atmosfera de 5 % de CO_2 . As células foram tratadas com $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ de extrato preparado em MEMD livre de SFB. Após 1 h de tratamento, as células foram estimuladas com $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de lipopolissacarídeo (LPS) por 24 h. Após este período, o sobrenadante foi removido para medir o nitrito, um dos metabólitos estáveis do óxido nítrico.

Os níveis de nitrito foram avaliados pelo ensaio descrito por Grisham, Johnson e Lancaster (1996). Resumidamente, $100 \mu\text{L}$ de meio de cultura foram incubados por 15 min com reagente Griess (partes iguais de 1 % de sulfanilamida em 10 % de ácido fosfórico em 0,1 % de naftil-etilenodiamina em água). A absorbância foi lida no comprimento de onda de 540 nm.

A quantidade de nitrito foi calculada a partir da curva padrão de nitrito de sódio (NaNO_2). Os resultados da inibição do nitrito foram expressos em ($\mu\text{mol mL}^{-1} \pm$ desvio padrão).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados com o software *Statistica* STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

O primeiro planejamento experimental foi analisado quanto ao rendimento global, gráfico de Pareto e a atuação de duas variáveis simultaneamente. O segundo planejamento experimental tratou dos quantitativos, como rendimento global, rendimento total de esteróis, rendimento total de triterpenos, atividade antioxidante, CFT, FPS, citotoxicidade e inibição da produção de NO e citotoxicidade, por análise de variância (ANOVA) utilizado para detectar diferenças significativas entre os resultados obtidos. Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram analisadas pelo teste de Tukey.

O valor do desvio padrão para o rendimento global foi obtido de triplicatas independentes. Para os ensaios de atividade biológica, as triplicatas foram obtidas a partir de uma amostra independente.

3.7 MODELAGEM MATEMÁTICA - ESC

Como uma ferramenta para auxiliar na compreensão do processo de ESC dos compostos presentes na SJ, utilizou-se o software COMSOL *Multiphysics*[®], que, por sua vez, apresenta módulos onde cada um dos fenômenos de transporte é pré-estabelecido a partir de balanços diferenciais e das leis de conservação empregando o método de elementos finitos para a resolução das equações.

Esta forma de resolução baseia-se no uso de equações diferenciais ordinárias e equações diferenciais parciais juntamente com as condições de contorno para aproximar a solução do problema. Inicialmente, deve-se fazer a definição do problema e do domínio onde os fenômenos ocorrem. Em seguida, aplica-se o método de elementos finitos para a solução do problema proposto e, finalmente, a apresentação gráfica dos resultados.

A célula de extração utilizada experimentalmente e reproduzida na modelagem matemática apresenta geometria cilíndrica de 12,75 cm de comprimento e 0,50 cm de raio, com uma entrada e uma saída de CO_2 com diâmetro interno de 1,00 mm localizadas no extremo inferior e superior, respectivamente.

As hipóteses adotadas na modelagem matemática são:

1. Sistema isotérmico;
2. Escoamento interparticular laminar;
3. Sistema de coordenadas cilíndricas axissimétricas para o leito;
4. A porosidade do leito é uniforme e constante;
5. Partículas são consideradas esféricas de tamanho e porosidade uniformes e constantes;
6. Regime transiente de extração sem reação química;
7. Considera-se que as espécies químicas presentes no extrato não interajam entre si;
8. Consideram-se os efeitos acoplados da transferência de massa interparticular e intraparticular;
9. Condições de resistência convectiva à transferência de massa são adotadas na superfície externa das partículas.

3.7.1 Estudo dos fenômenos de transporte

As seções a seguir apresentam os fenômenos estudados na modelagem matemática da extração de SJ e as equações que foram utilizadas na obtenção dos resultados.

3.7.1.1 Transferência de massa

Para descrever a transferência de massa na coluna com o meio poroso, foram utilizados modelos de convecção e difusão para espécie diluída. Considerou-se o sistema pseudo-homogêneo e sem reação química (Equações 8-11).

$$\varepsilon \frac{\partial C_i}{\partial t} + \nabla \cdot \Gamma_i + u \nabla C_i = 0 \quad (8)$$

$$N_i = \Gamma_i + u C_i = -D_{e,i} \nabla C_i + u C_i \quad (9)$$

$$D_{e,i} = \frac{\varepsilon}{\tau_{F,i}} D_{F,i} \quad (10)$$

$$\tau_{F,i} = \varepsilon^{-1/3} \quad (11)$$

Onde: ε é porosidade do leito, C_i é a concentração do componente i (mol m^{-3}), t é o tempo (s), u é a velocidade (m s^{-1}), N_i é o fluxo molar do componente i , $D_{e,i}$ é o coeficiente de difusão efetiva ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), $\tau_{F,i}$ é a tortuosidade, $D_{F,i}$ difusividade molecular do fluido ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$).

Para o balanço de massa da partícula, considerou-se uma formulação unidirecional devido à simetria radial (Equação 12 e Equação 13).

$$4\pi N \left\{ r^2 r_{pe}^2 \varepsilon_{pe} \frac{\partial C_{pe,i}}{\partial t} + \nabla \cdot \frac{\partial}{\partial r} \left(-r^2 D_{pe,i} \frac{\partial C_{pe,i}}{\partial r} \right) = r^2 r_{pe}^2 \right\} \quad (12)$$

$$(13)$$

$$D_{peff,i} = \varepsilon_{pe}^{4/3} D_{pe,i}$$

Onde: N é o número de partículas por unidade de volume do leito (n° de partículas m^{-3}), r é a coordenada radial adimensional que vai de 0 (centro) para 1 (superfície da partícula), r_{pe} é o raio da partícula, $C_{pe,i}$ é a concentração na partícula, ε_{pe} é a porosidade da partícula, $D_{peff,i}$ é o coeficiente de difusão efetivo na partícula ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) e $D_{pe,i}$ é o coeficiente de difusão na partícula ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$).

Para o acoplamento da concentração entre as partículas do leito e o fluido circundante, utilizou-se uma resistência convectiva na superfície da partícula (modelo de filme). O coeficiente de transferência de massa (h_D) foi introduzido, de modo a relacionar o fluxo de massa superficial (Equação 14).

$$N_{i,int} = h_D (C_i - C_{pe,i}) \quad (14)$$

Onde: $N_{i,int}$ é o fluxo molar do fluido livre no interior da partícula ($\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$) e h_D é o coeficiente de transferência de massa (m s^{-1}).

Quando esta formulação é assumida, o fluido livre (Equação 13) precisa ser alterado (Equação 15).

$$\varepsilon_b \frac{\partial C_i}{\partial t} + \nabla \cdot \Gamma_i + u \nabla C_i = -N_{i,int} S_b \quad (15)$$

Onde: ε é porosidade do leito, S_b área superficial exposta para fluxo de fluido livre no leito de partículas ($\text{m}^2 \text{m}^{-3}$) (excluindo o interior dos poros), assume-se a definição de um leito aleatoriamente empacotado (Equação 16).

$$S_b = \frac{3}{r_{pe}}(1 - \varepsilon_b) \quad (16)$$

O coeficiente de transferência de massa no filme externo (h_D) pode ser calculado com base no número de Sherwood (Sh) (Equação 17).

$$Sh = \frac{h_D d}{Dif} \quad (17)$$

Onde: h_D é o coeficiente de transferência de massa (m s^{-1}), d é o comprimento característico (m) e Dif é a difusividade molecular do componente i no fluido ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$).

O número de Sherwood pode ser calculado através da correlação de Frössling aplicada para transferência de massa para o fluxo em torno de uma partícula esférica (Equação 18).

$$Sh = 2 + 0,6 \text{Re}^{1/2} Sc^{1/3} \quad (18)$$

O número de Schmidt Sc é calculado em função da viscosidade, massa específica e da difusividade do componente i no fluido (Equação 19).

$$Sc = \frac{\mu}{\rho_i Dif} \quad (19)$$

Onde: μ é a viscosidade da mistura ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$), ρ_i é a massa específica do fluido (kg m^{-3}) e Dif é a difusividade molecular do componente i no fluido ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$).

O número de Reynolds (Re) é definido como a razão entre as forças inerciais e forças viscosas (Equação 20).

$$\text{Re} = \frac{\rho_i v_s d_p}{\mu} \quad (20)$$

Onde: ρ_l é a massa específica do fluido (kg m^{-3}), v_s é a velocidade superficial do fluido (m s^{-1}), d_p é o diâmetro de partícula (m) e μ é a viscosidade da mistura ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$). Aplicou-se a condição de simetria no centro da coluna e da partícula.

A dispersão mecânica foi tratada como uma função linear da velocidade intersticial do fluido (V_x) (ULIANA, 2016). Em regra geral, a dispersão mecânica foi baseada na expressão da dispersão longitudinal e na distância de transporte L (Equação 21).

$$D_m = 0,1LV_x \quad (21)$$

Onde: D_m é a dispersão mecânica ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), V_x é a velocidade intersticial do fluido (m s^{-1}) e L é a distância de transporte longitudinal (m).

3.7.1.2 Transferência de quantidade de movimento em meio poroso

A transferência de movimento ao longo da coluna foi descrita pela Lei de Darcy com a extensão de Brinkman à Lei de Darcy. O fluxo no meio poroso é governado pela combinação da equação da continuidade e do balanço do momento (Equações 22-23).

$$\rho_l \frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot \left[-PI + \mu \frac{1}{\varepsilon} (\nabla u + (\nabla u)^T) \right] - \mu k^{-1} u \quad (22)$$

$$\rho_l \nabla \cdot (u) = 0 \quad (23)$$

Onde: ρ_l é a massa específica fluido (kg m^{-3}), P é a pressão (Pa), I é o vetor unitário, μ é a viscosidade dinâmica ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$), T é a operação de transposição, k é a permeabilidade no meio poroso (m^2).

Para as áreas que não apresentam meio poroso (Equação 24), outros mecanismos governam a transferência de movimento.

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} = \nabla \cdot \left[-PI + \mu (\nabla u + (\nabla u)^T) - \frac{2}{3} \mu (\nabla \cdot u) I \right] \quad (24)$$

$$\rho \nabla \cdot (u) = 0 \quad (25)$$

Onde: P é a pressão (Pa), l é o vetor unitário, μ é a viscosidade dinâmica ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$), T é a operação de transposição.

Condição inicial: em $t=0$, a velocidade é igual a zero em todos os pontos do interior da coluna. Condições de contorno: a vazão líquida de injeção de CO_2 irá variar entre 3 e 4 mL min^{-1} , portanto a velocidade de fluxo do CO_2 supercrítico será entre 0,00089 e 0,0011 m s^{-1} para o limite inferior e superior, respectivamente. Nas paredes da coluna, utilizou-se condição de velocidade é igual a zero. Para a saída do fluxo utiliza-se uma condição distinta (Equação 26).

$$[-Pl + \mu \frac{1}{\varepsilon} (\nabla u + (\nabla u)^T)]n = -P_0 n \quad (26)$$

Onde: P é pressão (Pa), l é vetor unitário, μ é a viscosidade dinâmica ($\text{kg m}^{-1} \text{s}^{-1}$), P_0 é a pressão relativa (Pa), n é o vetor normal.

3.7.2 Concentração interna inicial de soluto

A concentração inicial de soluto por volume de vazios na partícula foi calculada e utilizada como condição inicial. Utilizou-se a massa inicial de soluto, que foi determinada a partir de GC/MS e a relação entre os volumes de sólidos e de vazios da amostra para a obtenção do valor em mol m^{-3} .

3.7.3 Estratégias da modelagem

O processo experimental da ESC acontece em duas etapas, a primeira etapa trata-se de uma extração estática até que a pressão e temperatura supercrítica sejam alcançadas, a segunda trata-se de uma etapa de extração dinâmica. Este comportamento foi simulado de forma adaptada.

A solução do modelo foi elaborada em duas etapas, a primeira, considerou-se o sistema fechado, porém saturado, pelo tempo médio em que o sistema demorava para ser pressurizado, que era aproximadamente 180 s. Considerou-se que durante este período os mecanismos de transferência de massa estavam atuando na matriz vegetal, no entanto, a coluna de extração permanecia fechada. Os resultados desta primeira etapa foram carregados em uma segunda etapa, que teve tempo total de 10800 s, onde o sistema permanecia aberto durante todo o período experimental e que o material extraído fluía juntamente com o CO₂. Para contabilizar a massa de material restante na coluna, faz-se a integração da soma das concentrações do componente A na fase fluida interparticular e no interior dos poros das partículas para todo o volume da coluna, para cada tempo de simulação a partir do início da operação (Equação 27).

$$n_{A\text{ totais}} = \iiint \varepsilon_b c_{-A} + (1 - \varepsilon_b) \varepsilon_{pe} c_{pe} m_{éd} c_{-A} dV \quad (27)$$

No passo seguinte, para se calcular a massa extraída, faz-se a diferença entre o número de mols existentes inicialmente na coluna (condição inicial) e o valor instantâneo residual obtido na simulação (Equação 27). Portanto, para um tempo suficientemente longo, a massa restante no interior da coluna deve se aproximar de zero e o valor da massa extraída acumulada ficar próxima do valor correspondente à condição inicial.

3.7.4 Estudo de malha para simulação numérica

As soluções são obtidas de maneira aproximada para um número determinado de elementos da malha e, em princípio, quanto maior o número desses elementos com adequada distribuição ao longo do domínio, mais precisos serão os cálculos. No entanto, quanto maior o refinamento da malha na simulação, maior será a demanda computacional para a resolução das equações envolvidas no modelo, exigindo maior esforço computacional e maior tempo de simulação.

Para otimizar o trabalho de simulação, a precisão de cálculos e o esforço computacional, foi realizado um estudo de malhas a fim de encontrar uma opção que possibilite uma solução estável e satisfatória, com processamento em tempo hábil. Visando assegurar a estabilidade e convergência do método numérico nos casos estudados o máximo passo de tempo permitido foi de 100 s.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, serão apresentados os principais resultados experimentais e simulados obtidos para este estudo.

4.1 PADRONIZAÇÃO DA AMOSTRA

Para evitar os efeitos da variabilidade nas sementes e obter resultados mais precisos, o material para amostragem foi padronizado e nas seguintes subseções serão apresentados os resultados.

4.1.1 Teor de umidade

Com a utilização da metodologia indicada, determinou-se que o teor de umidade do material (amostra de sementes de jaca) foi de $10,17 \pm 0,14$ %.

4.1.2 Análise granulométrica

O total em massa disponível para todos os experimentos foi de 1897 g de SJ moída. A análise da distribuição granulométrica foi baseada na metodologia proposta por Gomide (1980), sendo que o diâmetro médio referente a S1 é de 0,340 mm e para S2 é de 0,740 mm, determinados pela média ponderada dos diâmetros das malhas das peneiras utilizadas. O diâmetro médio foi considerado para a modelagem matemática.

4.2 PADRONIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO LEITO DE PARTÍCULAS

A padronização do leito de partículas é de fundamental importância para a etapa de modelagem matemática. A massa específica do leito de partículas está relacionada com as características das partículas, sua disposição no extrator e compactação do leito. A porosidade do leito representa a quantidade de espaços vazios. Na Tabela 9 são apresentados os valores dos parâmetros de caracterização das partículas e do leito.

Tabela 9 - Caracterização das partículas e do leito de extração

<i>Amostra</i>	ρ_b (g cm ⁻³)	ε	ρ_{pe} (g cm ⁻³)	ε_{pe}
S1	0,75 ± 0,07	0,48	1,4392 ± 0,0004	0,001948
S2	0,66 ± 0,05	0,54		

Fonte: Autora

4.3 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

As seções a seguir apresentarão os principais resultados obtidos para as TCE e ESC.

4.3.1 Técnicas convencionais de extração (TCE)

A subseção a seguir apresenta os resultados de rendimento para TCE obtidos pela triplicata dos experimentos.

4.3.1.1 Rendimento total (η_{Total})

Os extratos obtidos a partir de TCE se diferenciaram ligeiramente na cor e aroma. As diferenças com relação aos solventes utilizados também se apresentaram com relação ao rendimento (Tabela 10).

Tabela 10 - Rendimento global (η_{Total}) para TCE

TCE	Solvente	Polaridade*	η_{Total} (mg _{extrato} g _{amostra} ⁻¹)**
SOX	EtOH	5,2	173,13 ± 5,06 ^A
	HEX	0,0	16,75 ± 0,35 ^B
MAC	EtOH	5,2	23,87 ± 0,19 ^B
	HEX	0,0	6,61 ± 0,13 ^C

Fonte: *Índice de Polaridade (Barwick, 1997; Kumoro, Hasan e Singh, 2009)

**Valores da mesma coluna com diferentes letras maiúsculas representam uma diferença significativa de ($p < 0,05$) entre os experimentos.

Extrações com EtOH apresentaram maior rendimento quando relacionados com HEX. Ao se comparar os resultados obtidos para TCE, pode-se constatar que dois fatores interagem diretamente com o rendimento:

1) polaridade do solvente, pois, para a mesma técnica de extração, diferentes rendimentos são obtidos, devido a solubilidade dos compostos presentes na SJ, que se apresentou maior em EtOH do que em HEX. A solubilidade dos compostos presentes na matriz vegetal está relacionada à polaridade do solvente por meio da constante dielétrica, que, por sua vez, promove a repulsão eletrostática entre matriz e soluto e forças de atração entre soluto e

solvente, aumentando o rendimento global da extração (ANDRADE; TRIVELLIN; FERREIRA, 2017; FERRO et al., 2019).

2) temperatura, pois, ao aplicar a técnica SOX é possível obter maior rendimento, evidenciando que o aumento da temperatura favorece a extração dos compostos, uma vez que reduz a viscosidade do solvente, contribuindo para a transferência de massa e favorecendo sua difusão, resultando no alcance do solvente em lugares de difícil acesso na matriz vegetal (ANDRADE; TRIVELLIN; FERREIRA, 2017; FERRO et al., 2019; MAZZUTTI et al., 2012; PÉRES et al., 2006).

Okoye (2016) estudou a técnica SOX-HEX de SJ e obteve rendimento de 4,99 %, três vezes superior ao resultado obtido neste estudo aplicando a mesma técnica de extração e solvente. Zzaman (2012) estudou a MAC-EtOH à quente e obteve rendimento de 11,36 %, este valor está próximo aquele obtido neste trabalho com a técnica SOX-EtOH, $17,313 \pm 0,506$ %, a similaridade entre os resultados pode ser atribuída ao calor adicionado na técnica de extração.

A divergência entre os valores da literatura e os obtidos nesta pesquisa podem ser atribuídos aos diferentes parâmetros aplicados no processo, como tempo de extração, razão líquido/sólido, granulometria, teor de umidade e preparo da amostra. Além disso, as diferenças podem estar relacionadas a variabilidade das SJ, que, por sua vez, decorrem do local onde a espécie se desenvolveu, da época em que foi colhida ou do estágio de maturação da fruta, entre outros fatores (MAZZUTTI et al., 2012; PEREIRA; MEIRELES, 2010).

4.3.2 ESC - Planejamento experimental 1

Os resultados apresentados na subseção a seguir são referentes ao primeiro planejamento experimental.

4.3.2.1 Rendimento total (η_{Total})

O rendimento total da extração (Tabela 11) apresentou pouca variação e teve aumento acentuado pela utilização de EtOH como cossolvente.

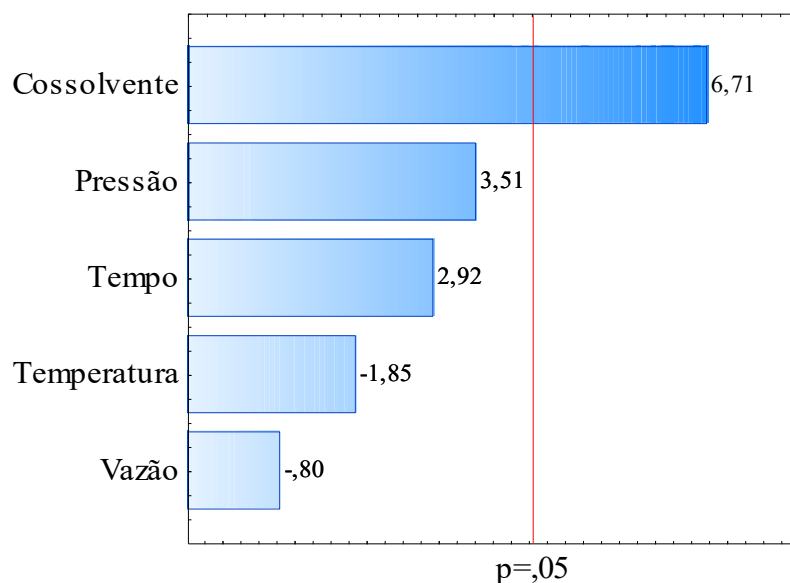
Tabela 11 - Rendimento global (η_{Total}) das extrações para o planejamento experimental 1 – Plackett-Burman

Experimento/Condição *	Solvente	η_{Total} ($\text{mg}_{\text{extrato}} \text{g}^{-1} \text{amostra}$) **
1 - 60°C/12 MPa/5 mL min ⁻¹ /0 %/0 min	CO ₂	7,70 ± 0,25 ^{F,G}
2 - 60°C/20 MPa/3 mL min ⁻¹ /5 %/0 min	CO ₂ /etanol	11,07 ± 0,59 ^{A,B,C}
3 - 40°C/20 MPa/5 mL min ⁻¹ /0 %/60 min	CO ₂	8,48 ± 0,33 ^{C,D,E,F,G}
4 - 60°C/12 MPa/5 mL min ⁻¹ /5 %/0 min	CO ₂ /etanol	6,76 ± 0,33 ^{F,G}
5 - 60°C/20 MPa/3 mL min ⁻¹ /5 %/60 min	CO ₂ /etanol	11,89 ± 0,99 ^A
6 - 60°C/20 MPa/5 mL min ⁻¹ /0 %/60 min	CO ₂	9,10 ± 0,55 ^{B,C,D,E,F,G}
7 - 40°C/20 MPa/5 mL min ⁻¹ /5 %/0 min	CO ₂ /etanol	10,61 ± 0,41 ^{A,B,C,D,E}
8 - 40°C/12 MPa/5 mL min ⁻¹ /5 %/60 min	CO ₂ /etanol	11,63 ± 0,47 ^{A,B}
9 - 40°C/12 MPa/3 mL min ⁻¹ /5 %/60 min	CO ₂ /etanol	10,79 ± 0,46 ^{A,B,C,D}
10 - 60°C/12 MPa/3 mL min ⁻¹ /0 %/60 min	CO ₂	6,58 ± 0,34 ^G
11 - 40°C/20 MPa/3 mL min ⁻¹ /0 %/0 min	CO ₂	7,99 ± 0,47 ^{E,F,G}
12 - 40°C/12 MPa/3 mL min ⁻¹ /0 %/0 min	CO ₂	7,76 ± 0,48 ^{F,G}
13 - 45°C/16 MPa/4 mL min ⁻¹ /2,5 %/30 min	CO ₂ /etanol	9,28 ± 0,48 ^{A,B,C,D,E,F,G}
14 - 45°C/16 MPa/4 mL min ⁻¹ /2,5 %/30 min	CO ₂ /etanol	8,25 ± 0,38 ^{D,E,F,G}
15 - 45°C/16 MPa/4 mL min ⁻¹ /2,5 %/30 min	CO ₂ /etanol	9,46 ± 0,43 ^{A,B,C,D,E,F}

*Codificação da condição dos experimentos: Temperatura (°C)/Pressão (MPa)/ Vazão de CO₂ (mL min⁻¹)/ Porcentagem mássica de EtOH com relação à vazão de CO₂ utilizada (%)/ Tempo estático (minutos).

**Valores da mesma coluna com diferentes letras maiúsculas representam uma diferença significativa de ($p < 0,05$) entre os experimentos.

Utilizou-se o gráfico de Pareto (Figura 8) para entender como os fatores atuaram sobre o rendimento global da extração.

Figura 8 - Gráfico de Pareto do rendimento global (η_{Total}) da ESC em função fatores

Fonte: Autora

De acordo com os resultados obtidos pelo planejamento experimental, foi possível determinar ($p < 0,05$) que o único fator determinante sobre o rendimento foi o cossolvente. Os demais fatores não se apresentaram determinantes neste intervalo de confiança.

Quando comparadas TCE e ESC, observou-se que o maior rendimento global foi obtido na extração SOX-EtOH, porém, esta técnica requer grande demanda energética, elevado tempo de extração, pós-processamento e o risco de degradação de compostos termolábeis. Além de avaliar o rendimento global, deve-se avaliar também a seletividades das técnicas e a pureza dos compostos extraídos, por isso, na próxima seção será apresentado o perfil químico de cada uma das técnicas.

4.3.3 Perfil químico relativo TCE e ESC

Analisou-se o perfil químico de cada extração utilizando GC/MS para determinação dos compostos extraídos juntamente com a porcentagem de área relativa ao cromatograma total (Tabela 12), avaliou-se também o seu peso molecular e a classe à qual pertence cada um dos compostos identificados.

Tabela 12 - Porcentagem de área dos compostos identificados nas TCE e ESC

Peso molecular (g mol ⁻¹)	TR (min)	Composto	Técnicas de extração																		
			TCE				ESC														
			SOX		MAC		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EtOH	Hex	EtOH	Hex																		
144,13	5,20	(a) 1,6octadien-3-ol, 3,7- dimetil	na	2,11	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
162,19	5,80	(b) 4H-Piran-4-one,2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6metil	1,00	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,35	7,82	(c)Safrole	na	2,80	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,36	8,61	(d) α -Cubebene	na	0,87	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,36	8,99	(d) Copaene	na	0,81	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,35	9,16	(d) α -Guaiene	na	2,74	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,36	9,58	(d) Cariófileno	na	3,15	na	0,06	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,36	9,92	(d) Seichelleno	na	0,73	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
202,34	10,24	(d) Di-epi-alfa-cedreno	na	1,23	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,36	10,27	(d) α -Curcumeno	na	1,93	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,36	10,34	(d) Germacrene	na	2,10	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
204,35	10,53	(d) Bicyclgermacrene	na	1,14	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
220,35	10,62	(d) Azulene,1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,4dimetil-7-(1-metiletinil)-,	na	1,65	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
256,42	16,09	(e) Ácido n-hexadecanóico	3,40	na	4,31	1,32	2,27	3,65	3,05	5,52	5,18	3,44	4,83	4,06	4,99	5,42	2,46	2,46	3,53	3,71	3,63
280,45	16,57	(e) Ácido hexadecanóico, etil ester	0,25	na	1,05	0,64	na	na	0,11	0,14	0,23	na	0,17	0,12	0,22	0,07	na	na	0,12	0,13	0,11
280,45	18,61	(e) 9,12 Ácido octadecadienóico (Z,Z)	1,81	na	4,20	1,70	2,63	4,56	4,08	6,47	6,13	4,41	5,99	5,02	5,79	6,30	3,93	3,68	4,55	4,65	4,57
410,72	19,06	(e) 9,12 Ácido octadecadienóico (Z,Z), etil ester	1,09	na	1,21	1,26	na	0,11	0,17	0,15	0,23	0,10	0,28	0,19	0,23	0,11	0,07	0,09	0,13	0,14	0,12
400,69	28,77	(g) Esqualeno	na	na	na	0,31	na	0,12	0,20	0,23	0,20	0,23	0,17	0,17	0,19	0,35	0,24	0,22	0,17	0,19	0,20
412,69	33,96	(f) Campesterol	na	na	na	0,08	na	0,09	0,10	0,13	0,12	0,11	0,15	0,11	0,11	0,11	0,12	0,09	0,10	0,09	0,14
426,73	34,37	(f) Stigmasterol	na	na	0,19	0,22	na	0,30	0,28	0,45	0,37	0,28	0,36	0,33	0,42	0,33	0,34	0,23	0,29	0,34	0,44
414,71	34,51	(g) Tirucalol	6,69	5,61	7,56	12,01	12,60	10,31	11,16	10,64	10,52	11,34	9,78	10,79	10,70	10,79	11,68	11,78	11,18	11,11	11,35
426,71	35,13	(f) β -sitosterol	4,00	2,02	3,02	2,86	3,37	4,00	3,26	4,38	3,79	3,45	4,03	3,53	4,00	3,07	3,27	2,84	3,50	3,80	3,93
426,71	35,68	(g) Lanosterol	10,55	8,19	10,35	13,17	15,19	13,33	13,46	12,76	13,05	13,75	12,58	13,43	12,96	11,80	13,56	14,02	13,82	13,61	13,65
424,71	35,80	(g) Lupeol	3,41	2,08	1,98	2,39	3,42	3,11	3,01	2,90	2,87	3,24	2,74	3,13	3,02	2,55	3,11	3,21	3,11	3,04	3,10
426,72	36,02	(g) 13,27cicloursan-3-one	17,27	23,28	14,66	17,42	17,35	15,79	15,87	14,61	14,98	15,74	15,23	16,10	14,81	15,75	16,03	16,51	16,12	15,75	15,51
426,72	36,24	(f) 9,19ciclolanost-24-en-3-ol, (3 β)	10,57	13,98	10,64	11,82	10,85	12,57	12,17	11,52	11,75	12,13	11,62	12,18	11,66	9,99	11,80	12,12	12,39	12,33	12,26
438,74	36,95	(g) 24 Metileno Cicloartan-3-one	2,33	2,03	3,49	4,57	4,26	4,19	4,72	4,09	3,99	4,39	3,88	4,17	4,06	4,60	4,55	4,51	4,25	4,27	4,25
204,35	37,17	(a) Sesquirosefuran	7,65	10,85	8,65	10,97	8,21	7,70	7,99	7,16	7,27	7,74	7,29	7,71	7,10	9,99	7,95	8,14	7,71	7,53	7,46
468,75	37,29	(a) Guaia-9,11-diene	na	na	na	na	2,11	2,83	2,43	2,57	2,44	2,78	2,34	2,62	2,55	2,48	2,84	2,79	2,58	2,65	2,60
426,72	37,95	(f) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimethyl-, acetate, (3 β ,4 α ,5 α)-	7,28	11,59	6,69	8,41	8,64	7,96	8,21	7,43	7,55	8,12	7,49	8,01	7,39	7,92	8,23	8,47	7,92	7,88	7,68

Legenda: TR - Tempo de retenção.

Classe dos compostos identificados em GC/MS: (a) - Terpenos; (b) - Cetona; (c) - Fenilpropeno; (d) Sesquiterpenos; (e) Ácidos graxos; (f) Esteróis; (g) Triterpenos.

Fonte: Autora

Em geral, apenas 4 ácidos graxos foram identificados entre 15 e 20 min, os demais compostos tiveram maior tempo de retenção apresentando-se entre 34 e 40 min. Estes últimos compostos são de elevado peso molecular, longas cadeias e com características semelhantes, tratam-se basicamente de triterpenos e esteróis. Os compostos identificados foram separados por classes (Tabela 13), uma vez que a análise GC/MS do extrato não apresentou um composto majoritário.

Tabela 13 - Porcentagem de área relativa dos compostos identificados por GC/MS separados por classes

Técnicas de extração		Compostos							
		Terpenos	Triterpenos	Sesquiterpenos	Ácidos graxos	Esteróis	Outros	ni	
SOX	EtOH	7,65	40,24	na	6,55	21,84	1,21	22,50	
	Hex	12,87	41,13	16,13	na	27,07	2,80	0,00	
TCE	EtOH	8,65	38,05	na	10,77	20,55	na	21,98	
	Hex	10,97	49,86	0,06	4,92	23,40	na	10,78	
TNCE	ESC	1	10,32	52,82	na	4,90	22,85	na	9,11
		2	10,53	46,84	na	8,21	24,91	na	9,51
		3	10,42	48,41	na	7,41	24,01	na	9,75
		4	9,73	45,23	na	12,27	23,92	na	8,84
		5	9,71	45,60	na	11,76	23,58	na	9,35
		6	10,75	48,69	na	7,96	24,07	na	8,53
		7	9,63	44,37	na	11,26	23,66	na	11,08
		8	10,33	47,79	na	9,39	24,16	na	8,33
		9	9,65	45,74	na	11,23	23,58	na	9,80
		10	12,48	45,84	na	11,91	21,42	na	8,35
		11	10,79	49,17	na	6,46	23,74	na	9,84
		12	10,93	50,26	na	6,24	23,74	na	8,83
		13	10,28	48,64	na	8,33	24,20	na	8,55
		14	10,18	47,97	na	8,63	24,45	na	8,78
		15	10,07	48,05	na	8,43	24,45	na	9,01

Legenda: ni - não identificado; na: não apresenta.

Fonte: Autora

Dentre as classes dos compostos identificados pelo GC/MS os mais representativos são os triterpenos e os esteróis.

Sharma, Gupta e Verna (2015) e Srinivasan e Kumaravel (2016) relataram a presença de hidrocarbonetos, esteróis, ácidos graxos insaturados e saturados, terpenos, triterpenos, componentes fenólicos e flavonoides na caracterização de casca de jaca e pó de polpa de jaca, respectivamente. Estes autores evidenciaram alguns compostos de elevada importância como o esqualeno para a indústria cosmética e a presença do β -sitosterol que tem apresentado influência positiva para o tratamento da diabetes, reduzindo rapidamente a glicose do sangue por meio da inibição do cortisol.

Fingolo et al. (2013) estudaram os compostos obtidos da *Dorstenia arifolia*, da família Moraceae. Família, à qual também pertence a *Artocarpus heterophyllus* e encontraram diversos

triterpenos, os quais, atribuíram propriedades como antídoto para picada de cobra e ação anti-inflamatória.

Silva et al. (2012) estudaram os ácidos derivados de triterpenos como oleano, ursano e lupano e reportaram que os mesmos apresentam elevado potencial como bioativos e exibem importante atividade biológica assim como farmacêutica, incluindo atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antiviral e positivos efeitos cardiovasculares.

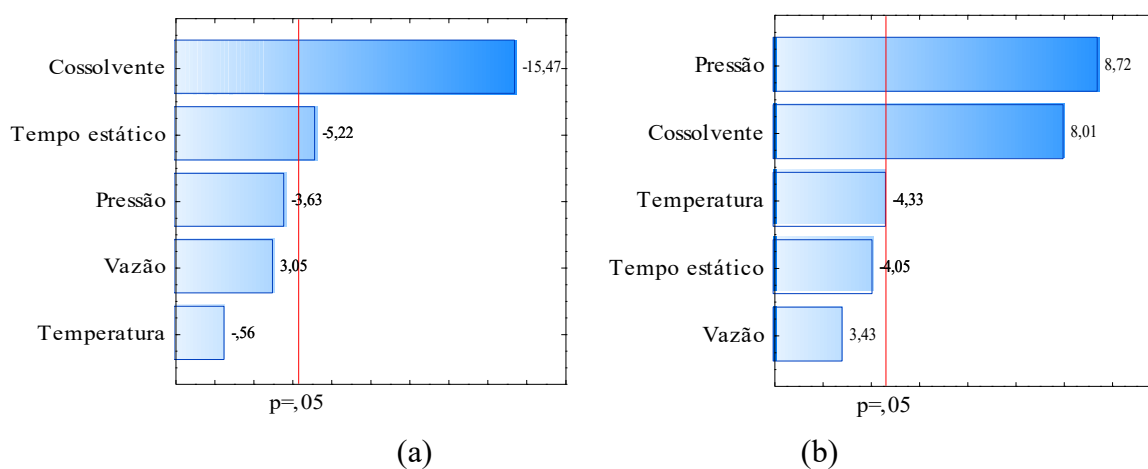
O lanosterol apresentou porcentagem de área significativa e é reportado como agente de potencial uso para área oftalmológica. Zhao et al. (2015) constataram sua eficiência para a prevenção e tratamento de catarata, reduzindo significativamente o quadro clínico de cataratas severas em cães.

Devido às propriedades apresentadas e à elevada porcentagem de área obtida, os triterpenos e esteróis são as classes de maior interesse de estudo na presente pesquisa, uma vez que podem convergir para aplicações de relevância.

A porcentagem de área dos esteróis nas TCE é maior na técnica SOX em ambos os solventes, ou seja, o efeito da temperatura foi positivo. Em contrapartida, os triterpenos apresentaram maior porcentagem de área quando extraídos pela técnica MAC-HEX, o que evidencia o caráter apolar destes compostos e o efeito negativo da temperatura.

Para análise dos resultados da ESC, utilizou-se o gráfico de Pareto (Figura 9), que apresenta como os fatores atuaram sobre os triterpenos e esteróis.

Figura 9 - Gráfico de Pareto para comparação da atuação dos fatores sobre as classes de compostos extraídos. (a) Triterpenos. (b) Esteróis



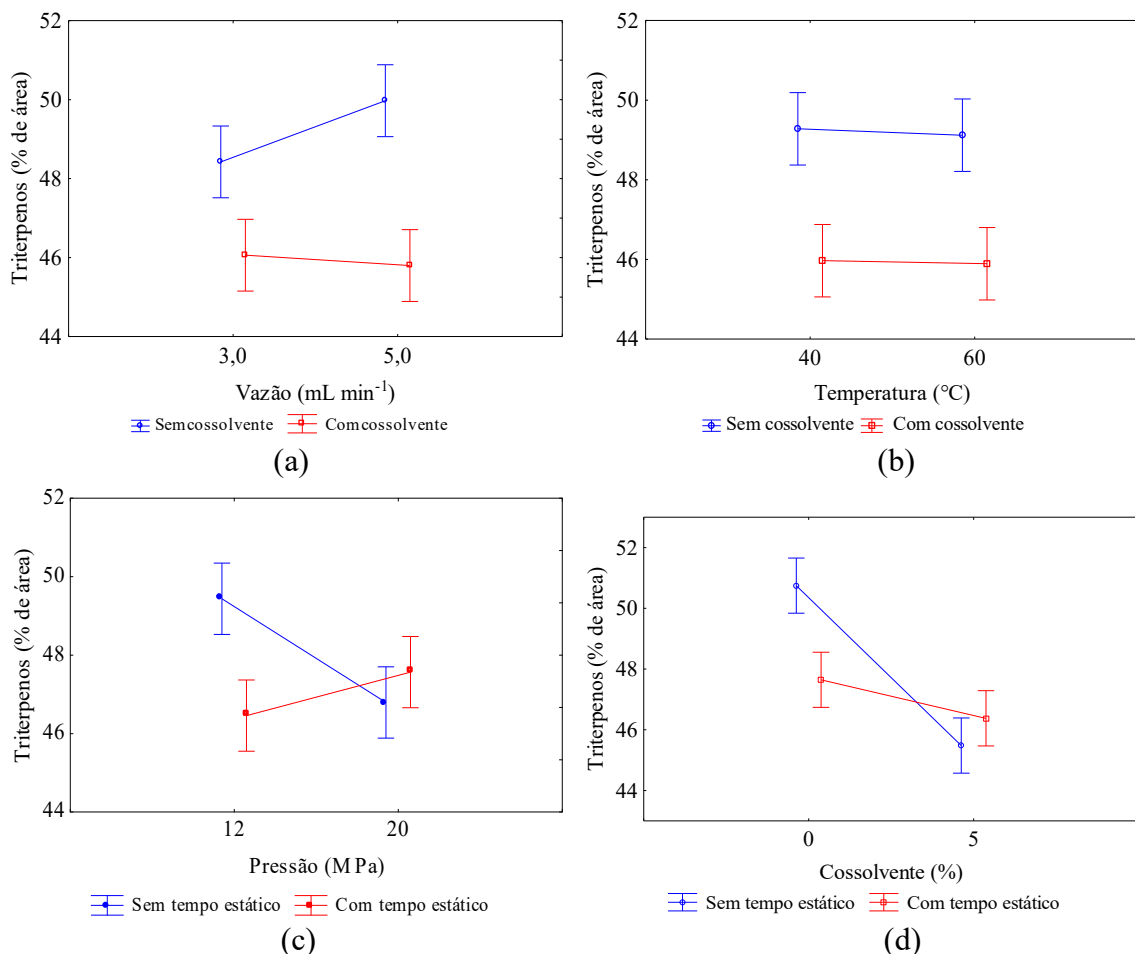
Fonte: Autora

Para os triterpenos, as variáveis cossolvente e tempo estático apresentaram-se como relevantes dentro do intervalo de confiança ($p < 0,05$). Os valores apresentados no gráfico são referentes ao valor de *t-Student*. As demais variáveis não foram determinantes.

Para os esteróis, a atuação das variáveis pressão, cossolvente e temperatura apresentaram-se dentro do intervalo de confiança ($p < 0,05$) como relevantes. Os valores apresentados no gráfico são referentes ao valor de *t-Student*. O aumento da pressão atua incrementando a massa específica do CO₂ e consequentemente seu poder de solvatação, o que faz com que moléculas mais pesadas possam ser arrastadas. A elevação da temperatura atua de forma negativa, isso pode ser explicado pela degradação destes compostos ou pela redução da sua solubilidade.

Para melhor entendimento da atuação dos fatores sobre os triterpenos e esteróis, avaliou-se a interação entre dois fatores (Figura 10 e Figura 11), para identificar o efeito no rendimento total de extração.

Figura 10 - Efeitos sobre a extração de triterpenos: (a) Vazão e cossolvente. (b) Temperatura e cossolvente. (c) Pressão e tempo estático. (d) Cossolvente e tempo estático



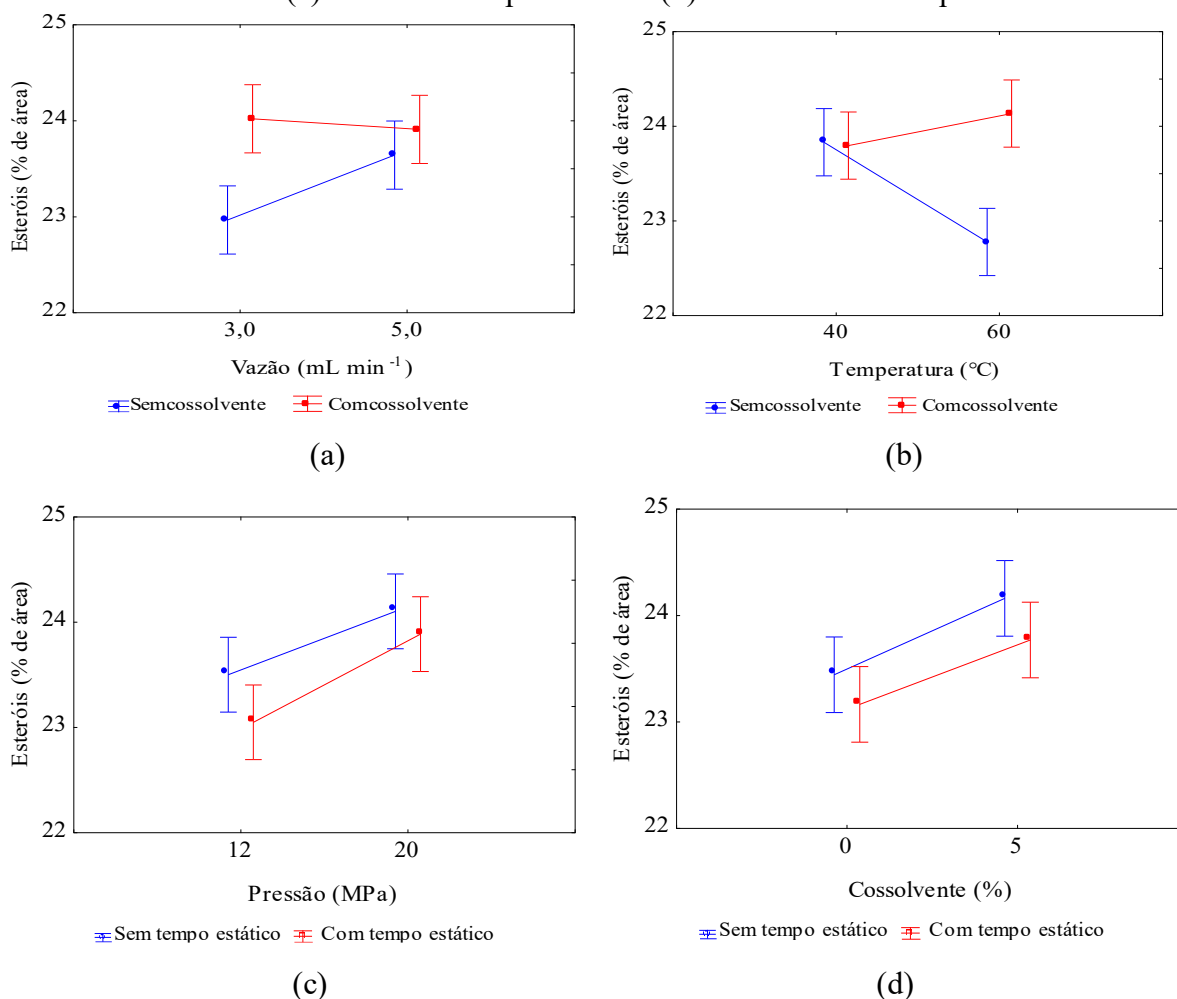
Fonte: Autora

Considerando um nível de confiança de 95 % utilizado na análise estatística pode-se afirmar que o aumento da vazão (a) na ausência de cossolvente favorece o aumento da porcentagem de área dos triterpenos.

O aumento da pressão (c) assim como de cossolvente (d) na ausência de tempo estático fizeram com que a porcentagem de área dos triterpenos fosse reduzida.

Concluiu-se que a utilização de cossolvente apresenta influência negativa na extração dos triterpenos assim como a utilização do tempo estático. Os demais resultados apresentados estão dentro da faixa de incerteza do experimento.

Figura 11 - Efeitos sobre a extração de esteróis: (a) Vazão e cossolvente. (b) Temperatura e cossolvente. (c) Pressão e tempo estático. (d) Cossolvente e tempo estático



Fonte: Autora

Considerando o nível de confiança, observa-se que o aumento da vazão de CO₂ (a) favorece a extração dos esteróis, que são apolares e afins a este solvente para o caso em que não é usado cossolvente.

O aumento da temperatura (b) na ausência de cossolvente não é favorável para a extração dos esteróis, reduzindo a porcentagem de área desta classe de compostos.

O valor da porcentagem de área para os esteróis na ausência de tempo estático é maior que na sua presença (c) e (d), logo, a sua utilização não favorece a extração desta classe de compostos.

Conclui-se que a utilização de tempo estático é indiferente para o aumento da porcentagem de área dos esteróis. A utilização de cossolvente pode ser suprimida, uma vez que os resultados da extração alcançados com a sua presença podem ser obtidos manipulando as variáveis independentes, por exemplo, aumentando a vazão ou reduzindo a temperatura. Por outro lado, o aumento da temperatura apresenta-se negativo para extração desta classe de compostos.

As variáveis que mais influenciaram no processo de extração dos triterpenos e esteróis foram temperatura, pressão e vazão de CO₂. Para os triterpenos e esteróis, a utilização de tempo estático desfavorece a extração. Os resultados obtidos para os esteróis utilizando cossolvente podem ser alcançados controlando outros fatores.

A partir deste refinamento, faz-se necessário um estudo para obter a melhor condição de operação considerando os fatores identificados para maximizar a quantidade destas classes de compostos dentro das faixas de valores estudadas.

4.3.4 ESC - Planejamento Experimental 2

No planejamento experimental 2 para ESC (Tabela 14), o rendimento global variou entre $7,42 \pm 0,28 \text{ mg g}^{-1}$ para a condição de $40 \text{ }^\circ\text{C}/12 \text{ MPa}/3 \text{ mL min}^{-1}$ e $10,64 \pm 0,83 \text{ mg g}^{-1}$ para a condição $40 \text{ }^\circ\text{C}/20 \text{ MPa}/4 \text{ mL min}^{-1}$, sendo estatisticamente diferentes entre si. No entanto, os valores intermediários não apresentaram diferença estatística significativa, ou seja, a variação no rendimento global ao comparar os extremos é significativa; no entanto, comparando ponto a ponto a variação se torna pequena, isso reduz a variabilidade estatística entre os resultados.

Um fator implícito incluído no planejamento experimental foi a razão solvente/amostra, que atua para aumentar o rendimento global da extração, devido ao aumento do número de moléculas de CO₂ por unidade de volume no leito que conseqüentemente aumenta a interação molecular entre o CO₂ e soluto, contribuindo para a dissolução do soluto (Nyam et al., 2010). Por exemplo, para vazão de $2,70 \text{ mL min}^{-1}$ durante uma extração de 150 min, foram utilizados 0,406 kg de CO₂, resultando na taxa de consumo de $57,98 \text{ kg de CO}_2 \text{ kg}^{-1}$ de amostra. Para um fluxo de solvente de $4,30 \text{ mL min}^{-1}$, durante uma extração de 150 min, foram utilizados

0,646 kg de CO₂ com uma taxa de consumo de 92,33 kg de CO₂ kg⁻¹ de amostra. Consequentemente ocorreu uma diferença de 37,2 % na massa de solvente utilizada.

4.3.4.1 Ajuste do modelo e análise de dados utilizando RSM

Os triterpenos foram considerados como a soma das massas dos seguintes compostos: esqualeno, tirucalol, lanosterol, lupeol, 13,27-cicloursan-3-one, 24-metilenocicloartanone. Como esteróis, considerou-se a soma dos seguintes compostos: campesterol, estigmasterol, β -sitosterol, 9,19-ciclolanost-24-en-3-ol, (3 β) e 9,19-cicloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)-. A Figura 12 mostra a superfície de resposta para η_{Total} , $\eta_{TotalEsteróis}$ e $\eta_{TotalTriterpenos}$. Os resultados obtidos para o planejamento experimental de cada execução experimental são apresentados na Tabela 14.

Para investigar os fatores e interações que influenciaram as variáveis dependentes dentro dos intervalos considerados, foram ajustados modelos de regressão polinomial a partir da RSM. Os coeficientes de regressão obtidos para cada resposta utilizando variáveis codificadas, bem como os coeficientes de determinação ajustados (R^2_{adj}) e o coeficiente de determinação múltipla (R^2) são apresentadas na Tabela 15.

4.3.4.1.1 Rendimento global de extração (η_{Total})

Para entender a relação entre as variáveis independentes e o rendimento global das extrações, é necessário avaliar a superfície de resposta (Figura 12 (a)). O valor de η_{Total} apresentou seu máximo em duas situações diferentes. A primeira situação foi em baixas temperaturas (38 °C) e altas pressões (22 MPa). A segunda situação foi para baixas pressões (11 MPa) e altas temperaturas (52 °C). Enquanto o menor rendimento global ocorreu em baixas temperaturas (40 °C) e baixas pressões (12 MPa). O máximo valor de η_{Total} esteve presente em dois momentos distintos, devido às melhores condições de extração dos triterpenos e esteróis, que ocorreram nos extremos de pressão e serão descritos posteriormente.

Ao avaliar os fatores e interações no modelo de regressão que foram identificados como estatisticamente significativos ($p < 0,05$) para a variável dependente η_{Total} , pode-se concluir que as maiores contribuições positivas estão relacionadas aos coeficientes lineares da vazão de CO₂, pressão, temperatura e coeficiente quadrático de temperatura. A interação linear entre os coeficientes de temperatura e pressão, bem como a vazão quadrática, resultaram em um efeito negativo na variável η_{Total} . Os demais fatores e interações não foram significativos,

considerando o nível de confiança da análise e os intervalos utilizados para os fatores. A Equação 28 representa o modelo estatístico determinado para η_{Total} , considerando apenas os coeficientes de regressão significativos.

$$\eta_{Total} = 9,110 + 0,287 \times X_T + 0,370 \times X_P + 0,576 \times X_{CO_2} + 0,214 \times X_T^2 + (-0,246) \times X_{CO_2}^2 + (-0,554) \times X_T X_P$$

(28)

O coeficiente de regressão múltipla (R^2) determinado para o modelo foi de 0,891 e o valor ajustado dos coeficientes de determinação (R^2_{adj}) foi de 0,809, indicando a precisão entre os valores calculados para o modelo e os valores obtidos experimentalmente para η_{Total} (Tabela 15).

4.3.4.1.2 Rendimento global de esteróis ($\eta_{TotalEsteróis}$)

A Tabela 14 mostra os resultados para a extração de esteróis para TCE e ESC, a técnica SOX-HEX apresentou o maior valor de $\eta_{TotalEsteróis}$ $0,913 \pm 0,005$ mg_{SR} g⁻¹ de amostra. As extrações com HEX apresentaram melhores resultados quando comparadas com EtOH. Isso deve estar relacionado à afinidade solvente/soluto que ocorreu durante a extração e à constante dielétrica (ANDRADE; TRIVELLIN; FERREIRA, 2017; FERRO et al., 2019).

Nas superfícies de resposta para a variável dependente $\eta_{TotalEsteróis}$, foi observado um aumento no perfil de esteróis com o aumento da pressão (22 MPa) a baixas temperaturas (38 °C). O maior teor de esteróis foi de $0,832 \pm 0,007$ mg_{SR} g⁻¹ de amostra, referente à condição de extração de 40 °C/20 MPa/4 mL min⁻¹, seguido pelo valor de $0,800 \pm 0,009$ mg_{SR} g⁻¹ de amostra, para a condição 40 °C/20 MPa/3 mL min⁻¹, que são estatisticamente semelhantes e obtidos sob as mais altas condições de pressão e densidade de CO₂.

Esses resultados estão de acordo com os estudos de Bogdanovic et al. (2016), Martins et al. (2016b), Nyam et al. (2010) e Nyam et al. (2011). Esses autores avaliaram a extração de esteróis por ESC de várias plantas e indicaram que o ponto ideal para a extração desses compostos variou entre 22,8 e 40,0 MPa e temperaturas entre 30 e 42 °C. Por outro lado, Sajfrtová et al. (2010) descreve que a melhor condição de extração para o β -sitosterol foi de 15 MPa e 40 °C. Essa diferença de temperatura e pressão pode estar relacionada ao fato de os autores considerarem um único esteroide, enquanto neste estudo foi avaliada a melhor condição de extração do conjunto de esteróis presentes na SJ. Martins et al. (2016a) e Xu et al. (2011)

obtiveram seus pontos ótimos de extração em pressões semelhantes às obtidas neste estudo, no entanto, em temperaturas mais elevadas, isso pode estar relacionado à natureza dos compostos obtidos e sua interação com a matriz vegetal.

Avaliando os fatores e interações que foram identificados como estatisticamente relevantes ($p < 0,05$) para a variável dependente $\eta_{TotalEsteróis}$ tem-se que para o modelo linear, a temperatura teve um efeito negativo na extração de esteróis, a pressão teve um efeito positivo e a interação temperatura e pressão apresentou efeito negativo. Os outros fatores e interações não foram significativos considerando o nível de confiança da análise. A Equação 29 representa o modelo estatístico determinado para $\eta_{TotalEsteróis}$, considerando apenas os coeficientes de regressão significativos.

$$\eta_{TotalEsteróis} = 0,596 + (-0,069) \times X_T + 0,044 \times X_P + (-0,043) \times X_T X_P \quad (29)$$

O coeficiente de regressão múltipla (R^2) determinado para o modelo foi 0,857 e o valor ajustado dos coeficientes de determinação (R^2_{adj}) foi 0,804, indicando a previsão entre os valores calculados para o modelo e o valor obtido experimentalmente para $\eta_{TotalEsteróis}$ (Tabela 15).

4.3.4.1.3 Rendimento global de triterpenos ($\eta_{TotalTriterpenos}$)

Dentre as TCE o maior rendimento para extração de triterpenos foi obtido por MAC-HEX que apresentou $1,413 \pm 0,004 \text{ mg}_{TT} \text{ g}^{-1}$ de amostra. As extrações com HEX apresentaram melhores resultados quando comparadas com EtOH e isto pode estar relacionado à afinidade solvente/soluto que ocorre durante a extração e à constante dielétrica, como foi relatado anteriormente (ANDRADE; TRIVELLIN; FERREIRA, 2017; FERRO et al., 2019).

Para a ESC, a melhor condição de extração dos triterpenos foi em elevada temperatura ($52 \text{ }^\circ\text{C}$) e baixa pressão (10 MPa). Os melhores valores obtidos foram $1,501 \pm 0,004 \text{ mg}_{TT} \text{ g}^{-1}$ para a condição $50 \text{ }^\circ\text{C}/12 \text{ MPa}/4 \text{ mL min}^{-1}$, estatisticamente semelhante a $1,485 \pm 0,004 \text{ mg}_{TT} \text{ g}^{-1}$ para a condição $45 \text{ }^\circ\text{C}/10,4 \text{ MPa}/3,5 \text{ mL min}^{-1}$, ambos obtidos nas condições de menor pressão e com baixa densidade de CO_2 . Este comportamento pode ser explicado pelo incremento da solubilidade dos triterpenos, uma vez que o aumento da temperatura resulta no aumento da pressão de vapor do soluto. Embora sejam usadas condições de baixa densidade de CO_2 , a temperatura apresentou maior influência na extração que a pressão, consequentemente,

temperaturas mais elevadas são capazes de extrair maior conteúdo de triterpenos (DOMINGUES et al., 2013).

Esses resultados estão de acordo com o estudo de Oludemi et al. (2018) que avaliaram a extração de triterpenóides de *Ganoderma lucidum* por extração assistida por ultrassom e extração assistida por calor e determinaram que a melhor temperatura de extração foi de 90 °C. Pandey e Kaur (2018) estudaram a extração de triterpenóides pentacíclicos por refluxo de calor e obtiveram as melhores condições de extração a 65 °C. Em contrapartida, Domingues et al. (2013) avaliaram a extração de ácidos terpênicos de *Eucalyptus globulus* por ESC e determinaram que a melhor temperatura de extração foi de 40 °C, 20 MPa usando 5 % de EtOH. A diferença atribuída a temperaturas mais baixas e pressões mais elevadas podem estar relacionadas pelo autor definir como ácidos terpênicos, compostos que não foram encontrados no extrato de SJ ou pela utilização de EtOH como cossolvente durante a extração.

Avaliando os fatores e interações identificados como estatisticamente relevantes ($p < 0,05$) para o modelo de variável dependente $\eta_{TotalTriterpenos}$, o coeficiente linear relativo à pressão na extração de triterpenos teve um efeito negativo, o coeficiente linear de vazão, temperatura e o coeficiente de pressão quadrático apresentaram efeito positivo na extração de triterpenos. Os outros fatores e interações não foram significativos considerando o nível de confiança da análise. A Equação 30 representa o modelo estatístico determinado para $\eta_{TotalTriterpenos}$ considerando apenas os coeficientes de regressão significativos.

$$\eta_{TotalTriterpenos} = 1,038 + 0,043 \times X_T + (-0,197) \times X_P + 0,055 \times X_P^2 + 0,078 \times X_{CO2} \quad (30)$$

O coeficiente de regressão múltipla (R^2) determinado para o modelo foi de 0,957 e o valor dos coeficientes de determinação ajustados (R^2_{adj}) foi de 0,925, indicando a previsão entre os valores calculados para o modelo e os valores experimentais obtidos $\eta_{TotalTriterpenos}$ (Tabela 17).

Tabela 14 - Resultados de rendimento η_{Total} , $\eta_{TotalTriterpenos}$ e $\eta_{TotalEsteróis}$ para TCE e ESC

TCE		Índice de Polaridade ¹	η_{Total} (mg _{extrato} g ⁻¹ amostra) ^{2,3}	$\eta_{TotalEsteróis}$ (mg _{SR} g ⁻¹ amostra) ^{2,3}	$\eta_{TotalTriterpenos}$ (mg _{TT} g ⁻¹ amostra) ^{2,3}
SOX	EtOH	5,2	173,13 ± 5,06* a, A	0,702 ± 0,004 d, E, F	1,316 ± 0,003 d, F
	HEX	0,0	16,75 ± 0,35* b, c, B, C	0,913 ± 0,005 a, A	1,342 ± 0,004 c, E
MAC	EtOH	5,2	23,87 ± 0,19* b, B	0,689 ± 0,002 d, e, F, G	1,264 ± 0,006 f, H
	HEX	0,0	6,61 ± 0,13* c, D	0,837 ± 0,004 c, C	1,413 ± 0,004 a, C
Experimento ESC/Condição		ρ_{CO_2} (kg m ⁻³) ⁴	η_{Total} (mg _{extrato} g ⁻¹ amostra) ^{2,3}	$\eta_{TotalEsteróis}$ (mg _{SR} g ⁻¹ amostra) ^{2,3}	$\eta_{TotalTriterpenos}$ (mg _{TT} g ⁻¹ amostra) ^{2,3}
1 - 40 °C/12 MPa/ 3 mL min ⁻¹		717,76	7,42 ± 0,28 d, D	0,533 ± 0,006 g, h, L	1,160 ± 0,004 d, I
2 - 50 °C/ 12 MPa/3 mL min ⁻¹		584,71	8,32 ± 0,19 c, d, D	0,486 ± 0,004 i, M	1,317 ± 0,003 c, F
3 - 40 °C/ 20 MPa/3 mL min ⁻¹		839,81	9,07 ± 0,26 a, b, c, d, D	0,800 ± 0,009 a, D	0,840 ± 0,002 i, N
4 - 50 °C/ 20 MPa/3 mL min ⁻¹		784,29	8,88 ± 0,30 b, c, d, D	0,550 ± 0,007 f, g, h, K, L	0,883 ± 0,001 h, M
5 - 40 °C/ 12 MPa/4 mL min ⁻¹		717,76	8,33 ± 0,28 c, d, D	0,658 ± 0,004 b, G	1,448 ± 0,003 b, B
6 - 50 °C/ 12 MPa/4 mL min ⁻¹		584,71	10,53 ± 0,37 a, b, C, D	0,534 ± 0,003 g, h, L	1,501 ± 0,004 a, A
7 - 40 °C/ 20 MPa/4 mL min ⁻¹		839,81	10,64 ± 0,23 a, C, D	0,832 ± 0,007 a, C	0,999 ± 0,003 g, L
8 - 50 °C/ 20 MPa/4 mL min ⁻¹		784,29	9,50 ± 0,35 a, b, c, D	0,564 ± 0,008 e, f, g, J, K	1,105 ± 0,003 e, J
9 - 36.6 °C/ 16 MPa/3.5 mL min ⁻¹		817,11	9,31 ± 0,36 a, b, c, D	0,679 ± 0,003 b, E, F, G	0,988 ± 0,004 g, L
10 - 53.4 °C/ 16 MPa/3.5 mL min ⁻¹		694,55	10,59 ± 0,37 a, b, C, D	0,528 ± 0,003 h, L	1,122 ± 0,006 e, J
11 - 45 °C/ 9.3 MPa/3.5 mL min ⁻¹		381,19	9,37 ± 0,28 a, b, c, D	0,573 ± 0,004 e, f, J, K	1,485 ± 0,004 a, A
12 - 45 °C/ 22.7 MPa/3.5 mL min ⁻¹		838,58	10,30 ± 0,34 a, b, C, D	0,610 ± 0,009 c, d, H, I	0,834 ± 0,002 i, N
13 - 45 °C/ 16 MPa/2.7 mL min ⁻¹		759,98	7,89 ± 0,30 c, d, D	0,570 ± 0,008 e, f, J, K	0,993 ± 0,006 g, L
14 - 45 °C/ 16 MPa/4.3 mL min ⁻¹		759,98	9,41 ± 0,31 a, b, c, D	0,621 ± 0,003 c, H	1,124 ± 0,003 e, J
15 - 45 °C/ 16 MPa/3.5 mL min ⁻¹		759,98	9,12 ± 0,31 a, b, c, D	0,608 ± 0,002 c, d, H, I	1,043 ± 0,002 f, K
16 - 45 °C/ 16 MPa/3.5 mL min ⁻¹		759,98	9,08 ± 0,23 a, b, c, d, D	0,585 ± 0,009 d, e, I, J	1,037 ± 0,002 f, K

Fonte: *Índice de polaridade (Barwick, 1997; Kumoro; Hasan; Singh, 2009)

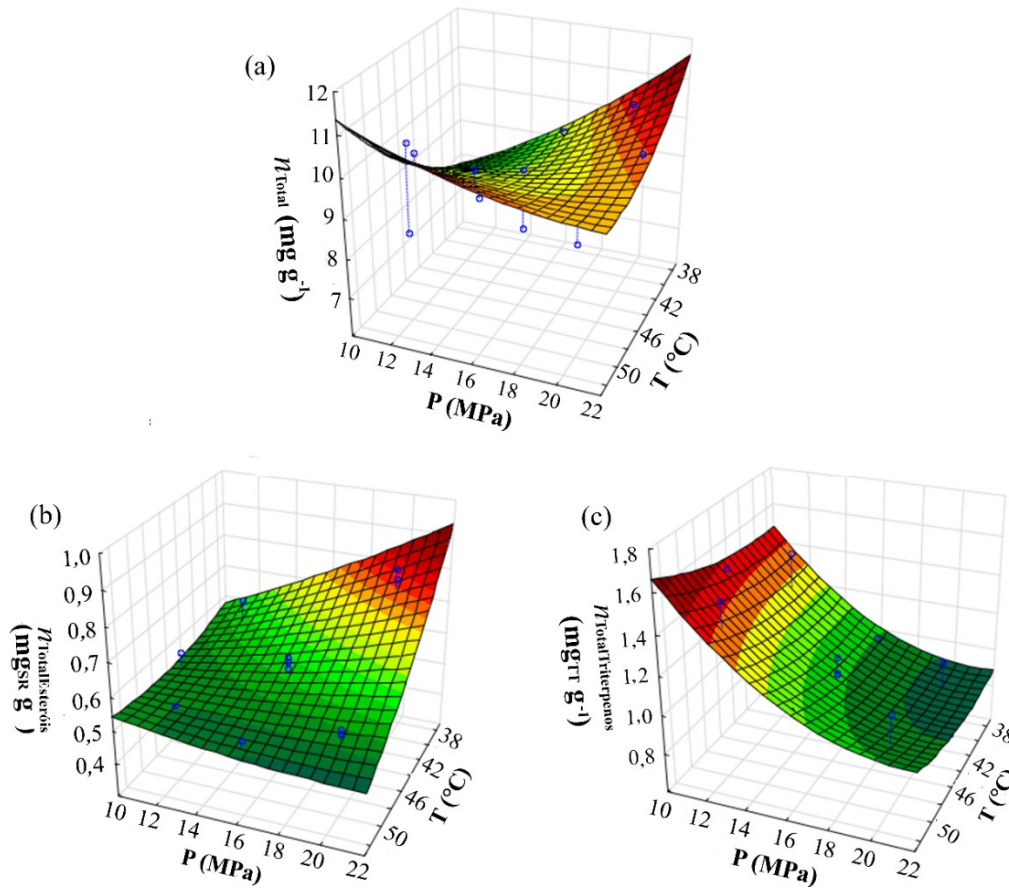
**Densidade do CO₂ (NIST, 2011).

***Dados apresentados anteriormente;

¹ Valores da mesma coluna com diferentes letras minúsculas representam uma diferença significativa ($p < 0,05$) considerando os experimentos TCE e ESC em grupos separadamente.

² Valores da mesma coluna com diferentes letras maiúsculas representam uma diferença significativa ($p < 0,05$), considerando todos os experimentos das TCE e ESC simultaneamente.

Figura 12 - Análise de superfície de resposta para temperatura e pressão, mantendo constante a vazão de CO₂ em 3,5 mL min⁻¹. (a) Rendimento total da extração (η_{Total}). (b) Rendimento global de esteróis ($\eta_{TotalEsteróis}$). (c) Rendimento global de triterpenos ($\eta_{TotalTriterpenos}$)



Fonte: Autora

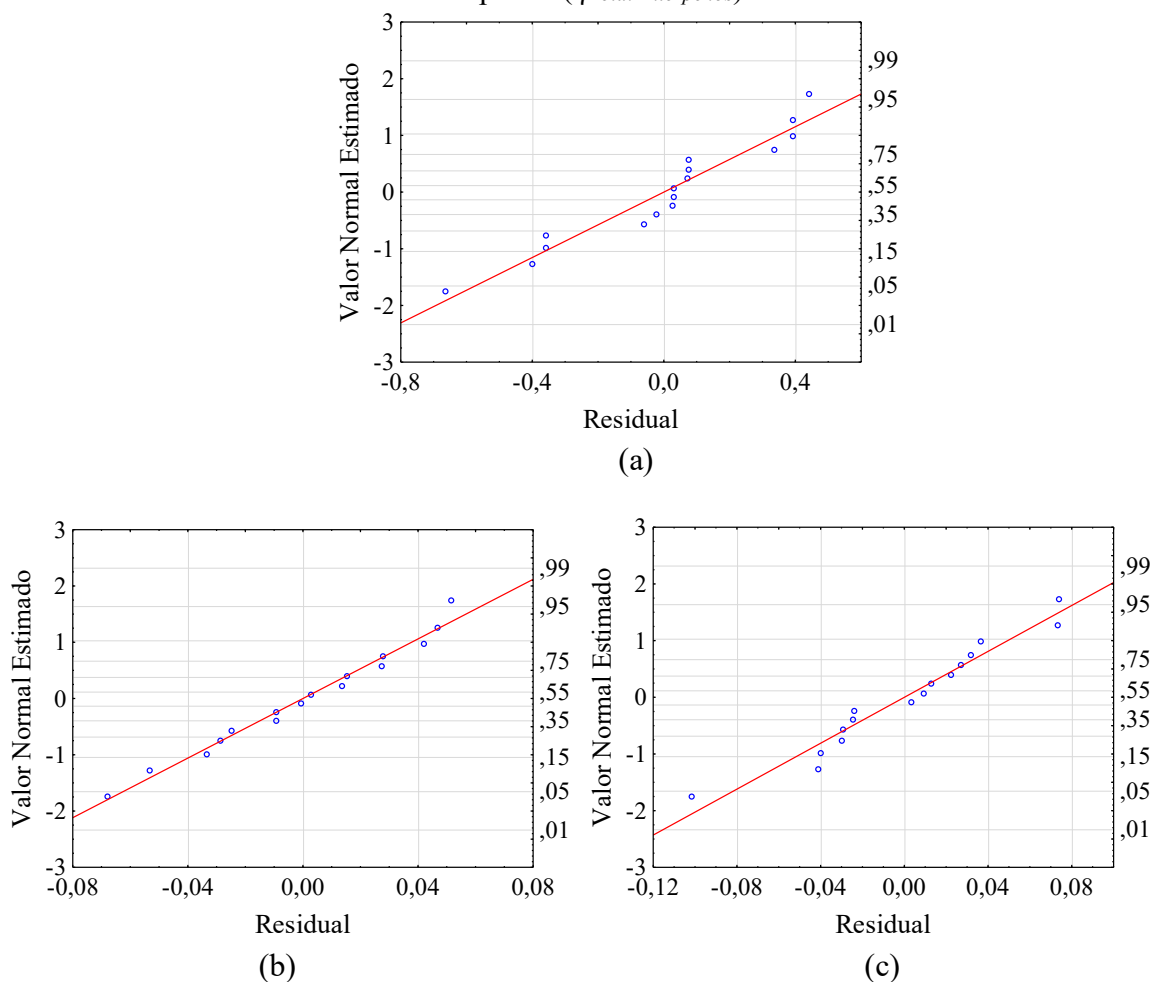
Tabela 15 - Coeficiente de regressão (CR) e *p*-valores para o modelo de η_{Total} , $\eta_{TotalEsteróis}$ e $\eta_{TotalTriterpenos}$ para extração com fluido supercrítico de SJ

Coeficientes	η_{Total}		$\eta_{TotalEsteróis}$		$\eta_{TotalTriterpenos}$	
	CR	<i>p</i> -valores	CR	<i>p</i> -valores	CR	<i>p</i> -valores
β_0	9,110	0,000	0,596	0,000	1,038	0,000
β_1	0,287	0,011	-0,069	0,000	0,043	0,009
β_{11}	0,214	0,035	0,007	0,495	0,018	0,183
β_2	0,370	0,002	0,044	0,002	-0,197	0,000
β_{22}	0,173	0,078	0,003	0,776	0,055	0,001
β_3	0,576	0,000	0,022	0,064	0,078	0,001
β_{33}	-0,246	0,018	0,004	0,676	0,020	0,158
β_{12}	-0,554	0,001	-0,043	0,010	-0,008	0,680
β_{13}	0,0437	0,733	-0,012	0,422	-0,005	0,781
β_{23}	-0,116	0,371	-0,016	0,288	-0,011	0,541
R ²	0,891		0,857		0,957	
R ² _{adj}	0,809		0,804		0,925	

Fonte: Autora

Na Tabela 15 foram apresentados os coeficientes de regressão obtidos para o modelo completo, porém, apenas os coeficientes em negrito foram considerados significativos ($p < 0,05$). E os valores de R^2 e R^2_{adj} são referentes ao modelo com os coeficientes significativos. Valores positivos para os coeficientes de regressão indicam que ocorre incremento da variável resposta em maior ou menor escala, enquanto valores negativos induzem a redução da variável resposta, nestas mesmas condições. A distribuição dos resíduos do planejamento experimental (Figura 13) apresentou-se adequada.

Figura 13 - Resíduos dos dados experimentais do planejamento CCD. (a) Rendimento total da extração (η_{Total}). (b) Rendimento global de esteróis ($\eta_{TotalEsteróis}$). (c) Rendimento global de triterpenos ($\eta_{TotalTriterpenos}$)



Fonte: Autora

A análise dos resíduos indica que os mesmos seguem a distribuição normal, o que é desejável para um planejamento experimental.

4.3.4.2 *Atividade biológica*

Nas subseções a seguir são apresentados os principais resultados obtidos para a atividade biológica *in vitro*.

4.3.4.2.1 Compostos fenólicos totais (CFT)

O extrato que apresentou os melhores resultados para o CFT foi obtido pela técnica SOX-EtOH ($12,075 \pm 2,131$ mg EAG g^{-1}) (Tabela 16). O efeito da polaridade do EtOH nos valores de CFT foi descrito por Zzaman (2012), que utilizou EtOH como solvente na extração de SJ e favoreceu a extração de maior quantidade de componentes polares detectáveis pelo método CFT.

Shanmugapriya et al. (2011) avaliaram a extração SOX-EtOH de SJ e obtiveram $4,16 \pm 0,01$ mg EAG g^{-1} de extrato, um valor inferior ao apresentado neste estudo (equivalente a $79,270 \pm 1,698$ mg EAG g^{-1} de extrato). A preparação ou pós-processamento de amostras e a variabilidade da matriz vegetal poderiam explicar as diferenças.

Ojwang et al. (2018) estudaram a extração de SJ pela técnica MAC com metanol e obtiveram valores entre 17,37 e 18,69 mg g^{-1} de extrato para amostras coletadas em diferentes locais. Os elevados valores obtidos estão relacionados ao uso de metanol e sua elevada polaridade e afinidade com os compostos fenólicos. O menor tamanho da molécula de solvente pode ter melhorado a permeabilidade na matriz vegetal, promovendo a difusividade e consequentemente o aumento do rendimento global (BRUNNER, 1994; SAKINTUNA; ÇUHADAR; YÜRÜM, 2006).

Shrikanta, Kumar e Govindaswamy (2013) estudaram a técnica de MAC à quente com a mistura EtOH/água (80:20 v/v) de SJ liofilizadas. Esses autores obtiveram o menor teor de CFT para SJ ($1,00 \pm 0,09$ mg EAG g^{-1} peso seco) entre todas as sementes estudadas, embora a utilização da água como solvente possa ter favorecido a extração de compostos fenólicos, uma vez que sua polaridade é maior que o próprio EtOH. A diferença entre os resultados obtidos neste estudo e o dos autores citados pode ser explicada pelo curto tempo de extração (30 min) ou diferenças na metodologia aplicada para a determinação dos CFT.

4.3.4.2.2 Método de captura do radical ABTS⁺

Os resultados para este ensaio variaram de $32,547 \pm 1,235$ a $0,101 \pm 0,002$ μ mol TE g^{-1} (Tabela 16). O melhor valor foi obtido para técnica SOX-EtOH ($32,547 \pm 1,235$ μ mol TE

g^{-1}), e, novamente, este valor é relacionado à polaridade, com a melhor transferência de massa entre a matriz vegetal e o solvente pelo aumento da temperatura, uma vez que favoreceu a extração de compostos que apresentam elevada atividade antioxidante avaliada mediante o método ABTS. Em todos os casos, os resultados obtidos para extrações com HEX apresentaram menores resultados quando comparados aos resultados obtidos com EtOH.

Para a técnica de ESC, o melhor resultado foi obtido em $50\text{ }^{\circ}\text{C}/12\text{ MPa}/4\text{ mL min}^{-1}$ ($0,659 \pm 0,014\text{ }\mu\text{mol TE g}^{-1}$), sugerindo que esta técnica, dentro dos limites testados de temperatura e pressão, não foi eficiente para a extração de antioxidantes detectado pelo método ABTS.

Os resultados obtidos serão discutidos qualitativamente, uma vez que a metodologia e os padrões descritos pela literatura foram diferentes daquelas utilizadas no presente estudo.

Soong e Barlow (2004) estudaram MAC à quente com a mistura EtOH/água (50:50 v/v) de SJ e obtiveram diferentes valores expressos em capacidade antioxidante equivalente de ácido ascórbico (AEAC) por massa de extrato ($\mu\text{mol AEAC g}^{-1}$) para amostra fresca ($7,4 \pm 2,0\text{ }\mu\text{mol AEAC g}^{-1}$) e para amostra liofilizada ($25,4\text{ }\mu\text{mol AEAC g}^{-1}$). Para as amostras liofilizadas, o maior valor, AEAC pode ser relacionado ao efeito do processo de liofilização da matriz vegetal. Durante este processo, dependendo das condições utilizadas, as paredes celulares da matriz vegetal podem ser quebradas, facilitando o acesso do solvente aos compostos presentes. Outra razão, pode ser a perda de água da matriz vegetal que concentra os compostos tornando-os mais disponíveis para extração (MELLOR; BELL, 1993; OETJEN, 1999).

4.3.4.2.3 Método de captura do radical DPPH

O melhor resultado foi obtido para a técnica de extração SOX-EtOH ($5,223 \pm 0,290\text{ }\mu\text{mol TE g}^{-1}$), seguido por MAC-EtOH ($1,387 \pm 0,001\text{ }\mu\text{mol TE g}^{-1}$). Os menores valores de concentração foram obtidos com TCE-HEX (Tabela 16). Estes resultados estão de acordo com os valores obtidos por Zzaman (2012), que relatou que a adição de EtOH nas extrações favoreceu a solubilidade de compostos com capacidade antioxidante. Além disso, foi demonstrado que o aumento da concentração deste solvente pode promover a quebra da membrana celular e favorecer melhor permeabilidade ao solvente na matriz.

A ESC apresentou resultados intermediários quando comparada as outras técnicas de extração. Zzaman (2012) relatou que o aumento na temperatura teve um efeito negativo na resposta do DPPH. Este efeito pode indicar que os compostos contidos no extrato detectáveis

pelo método DPPH são termolábeis. No entanto, não houve diferença estatística entre os resultados da ESC com o aumento da temperatura de 40 °C para 50 °C.

Tabela 16 - Compostos fenólicos totais (CFT), potencial antioxidante obtidos por ABTS e DPPH de extrato de SJ

	CFT (mg EAG g ⁻¹) ^{1,2}	ABTS (μmol TE g ⁻¹) ^{1,2}	DPPH (μmol TE g ⁻¹) ^{1,2}
TCE			
SOX EtOH	12,948 ± 2,131 ^{a,A}	32,547 ± 1,235 ^{a,A}	5,2235 ± 0,2899 ^{a,A}
SOX HEX	0,805 ± 0,025 ^{e,d,B}	1,898 ± 0,012 ^{d,C}	0,0040 ± 0,0020 ^{d,C}
MAC EtOH	1,892 ± 0,009 ^{b,B}	6,906 ± 0,025 ^{b,B}	1,3874 ± 0,0005 ^{b,B}
MAC HEX	0,572 ± 0,032 ^{g,f,B}	0,873 ± 0,001 ^{e,D}	0,0148 ± 0,0018 ^{d,C}
ESC			
40 °C/12 MPa/3 mL min ⁻¹	0,392 ± 0,008 ^{m,l,k,I,J,K,L}	0,138 ± 0,012 ^{f,M,N}	0,0207 ± 0,00078 ^{d,D}
50 °C/12 MPa/3 mL min ⁻¹	0,424 ± 0,026 ^{m,l,k,j,H,I,J,K}	0,273 ± 0,013 ^{f,I,J}	0,0177 ± 0,00085 ^{d,D}
40 °C/20 MPa/3 mL min ⁻¹	0,458 ± 0,015 ^{l,k,j,i,H,I,J}	0,372 ± 0,015 ^{fe,G,H}	0,0195 ± 0,00101 ^{d,D}
50 °C/20 MPa/3 mL min ⁻¹	0,341 ± 0,008 ^{m,L}	0,328 ± 0,015 ^{fe,H,I}	0,0205 ± 0,00094 ^{d,D}
40 °C/12 MPa/4 mL min ⁻¹	0,379 ± 0,004 ^{m,l,K,L}	0,176 ± 0,027 ^{f,L,M}	0,0205 ± 0,00035 ^{d,D}
50 °C/12 MPa/4 mL min ⁻¹	0,937 ± 0,004 ^{c,C}	0,656 ± 0,018 ^{fe,E}	0,0193 ± 0,00112 ^{d,D}
40 °C/20 MPa/4 mL min ⁻¹	0,486 ± 0,016 ^{j,i,h,g,F,G,H}	0,251 ± 0,037 ^{f,I,K}	0,0226 ± 0,00247 ^{d,D}
50 °C/20 MPa/4 mL min ⁻¹	0,468 ± 0,010 ^{k,j,i,h,G,H,I}	0,142 ± 0,032 ^{f,L,M,N}	0,0204 ± 0,00108 ^{d,D}
37,9 °C/16 MPa/3,5 mL min ⁻¹	0,559 ± 0,004 ^{g,f,E,F}	0,361 ± 0,016 ^{fe,H}	0,0179 ± 0,00421 ^{d,D}
52,1 °C/16 MPa/3,5 mL min ⁻¹	0,458 ± 0,028 ^{l,k,j,i,H,I,J}	0,592 ± 0,018 ^{fe,F}	0,0212 ± 0,00120 ^{d,D}
45 °C/10,4 MPa/3,5 mL min ⁻¹	0,383 ± 0,017 ^{m,l,k,I,K,L}	0,200 ± 0,016 ^{f,K,L}	0,0180 ± 0,00212 ^{d,D}
45 °C/21,6 MPa/3,5 mL min ⁻¹	0,718 ± 0,005 ^{e,D}	0,0751 ± 0,017 ^{f,O}	0,0215 ± 0,00113 ^{d,D}
45 °C/16 MPa/2,8 mL min ⁻¹	0,591 ± 0,023 ^{f,E}	0,659 ± 0,014 ^{fe,E}	0,0156 ± 0,00096 ^{d,D}
45 °C/16 MPa/4,2 mL min ⁻¹	0,588 ± 0,022 ^{f,E}	0,429 ± 0,016 ^{fe,G}	0,0203 ± 0,00106 ^{d,D}
45 °C/16 Mpa/3,5 mL min ⁻¹	0,552 ± 0,007 ^{h,g,f,E,F}	0,104 ± 0,016 ^{f,N,O}	0,0183 ± 0,00097 ^{d,D}
45 °C/16 Mpa/3,5 mL min ⁻¹	0,541 ± 0,001 ^{i,h,g,f,E,F,G}	0,101 ± 0,002 ^{f,N,O}	0,0175 ± 0,00074 ^{d,D}

¹ Valores da mesma coluna com letras minúsculas diferentes representam uma diferença significativa ($p < 0,05$) considerando TCE e ESC simultaneamente.

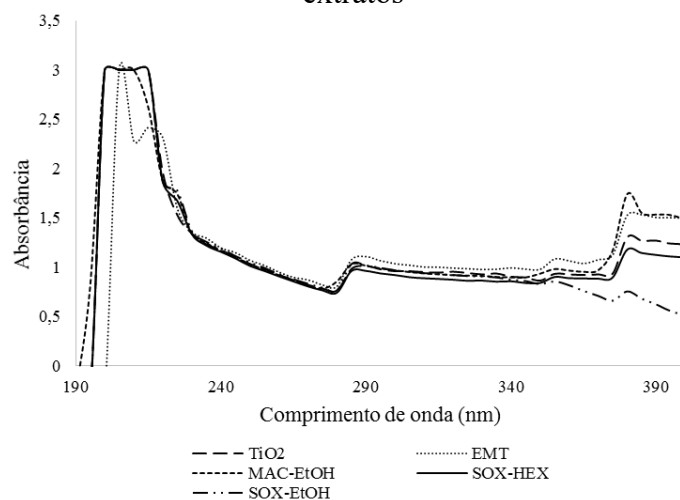
² Valores da mesma coluna com letras maiúsculas diferentes representam uma diferença significativa ($p < 0,05$) considerando TCE e ESC separadamente.

O teste de Tukey foi aplicado duas vezes sobre os resultados. No primeiro caso, consideraram-se os resultados das TCE e ESC simultaneamente, porém, a grande amplitude dos resultados homogeneiza os valores menores como se não houvesse diferença significativa entre os mesmos. No segundo caso, consideraram-se os resultados das TCE e ESC separadamente, comparando os resultados entre si, ou seja, TCE com TCE e ESC com ESC.

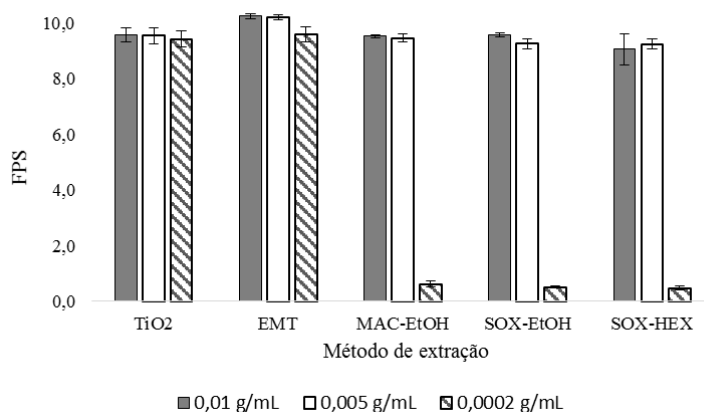
4.3.4.2.4 Fator de proteção solar

As curvas de absorção de luz UV (250 – 400 nm) em função do comprimento de onda dos extratos (Figura 14) e o fator de proteção solar (FPS) para a região UVB foi calculado.

Figura 14 - (a) Análise espectrofotométrica do comportamento dos extratos e dos padrões utilizados para absorção da luz UV. (b) Fator de proteção solar (FPS) calculados para os extratos



(a)



(b)

Fonte: Autora

Os extratos que apresentaram resultados de absorbância semelhantes aos padrões TiO_2 e EMT foram de MAC-EtOH, SOX-EtOH e SOX-HEX, pois absorvem a luz UV da mesma forma, não apenas na região UVB (290 - 320 nm), mas também nas regiões UVC (190 - 290 nm) e UVA (320 - 400nm). Os extratos obtidos por ESC não apresentaram resultados significativos de FPS em nenhuma das condições testadas.

A partir da análise estatística dos resultados do FPS, determinou-se que os extratos apresentaram comportamento semelhante aos padrões TiO_2 e EMT, apresentando atividade fotoprotetora. Na concentração de $0,01 \text{ g mL}^{-1}$ de extrato, não houve diferença estatística entre

TiO₂ e EMT e, na concentração de 0,005 g mL⁻¹ de extrato, não houve diferença estatística entre TiO₂, EMT e MAC-EtOH. Os demais resultados nestas concentrações não apresentaram diferença estatística quando comparados apenas ao TiO₂. Para concentração de 0,0002 g mL⁻¹ de extrato, não houve diferença estatística entre os padrões EMT e TiO₂. Os resultados obtidos para MAC-EtOH, SOX-EtOH e SOX-HEX não apresentaram diferença estatística entre eles, mas diferiram estatisticamente dos resultados obtidos para os padrões.

Os valores de FPS calculados para as TCE foram semelhantes aos obtidos para os padrões nas concentrações de 0,01 e 0,005 g mL⁻¹ de extrato. Para a concentração de 0,0002 g mL⁻¹ de extrato, os padrões continuaram a absorver a luz UV, mas os extratos não mantiveram essa característica, indicando que a capacidade de absorver a radiação UV é dependente da concentração. Esta é uma questão importante a ser considerada se o propósito é usar o extrato como um fotoprotetor.

Este efeito biológico positivo da fotoproteção pode estar relacionado à presença de artocarpina, uma proteína presente nas plantas do gênero *Artocarpus*, que foi estudado por Lee et al. (2013) e indicaram efeitos fotoprotetores significativos, reduzindo a descamação, o espessamento epidérmico e a formação de células queimadas em ratos, no entanto, sua presença não foi detectada pelo método analítico utilizado.

4.3.4.2.5 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana, expressa como CMI, dos extratos obtidos por TCE e ESC foram avaliadas utilizando alguns fungos filamentosos, leveduras e bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Tabela 17).

Foi constatada atividade antifúngica contra os fungos dermatófitos *E. floccosum*, *M. canis*, *M. gypseum* e *T. mentagrophytes*. Os fungos dermatófitos são patogênicos e requerem queratina para o crescimento. Estes fungos podem causar infecções superficiais do couro cabeludo, pele e unhas (White et al., 2014). A CMI do extrato com efeito antifúngico foi de 125 µg mL⁻¹ contra *M. canis* para ESC na condição de 50 °C/12 MPa/3 mL min⁻¹.

Resultados satisfatórios foram obtidos (250 - 500 µg mL⁻¹) contra o mesmo fungo para SOX-HEX, MAC-EtOH, MAC-HEX e para todas as condições ESC, com exceção de 45 °C/16 MPa/3,5 mL min⁻¹. Resultados satisfatórios foram obtidos contra *T. mentagrophytes* para SOX-HEX, MAC-EtOH e ESC nas seguintes condições: 40 °C/12 MPa/3 mL min⁻¹, 50 °C/12 MPa/3 mL min⁻¹, 40 °C/20 MPa/3 mL min⁻¹ e 50 °C /20 MPa/4 mL min⁻¹. Baixa atividade antifúngica (1000 µg mL⁻¹) foi obtida para as demais técnicas de extração e condições da ESC. Obtiveram-

se resultados satisfatórios contra *M. gypseum* pelas condições SOX-HEX, MAC-EtOH e ESC a 40 °C/12 MPa/3 mL min⁻¹. Baixa atividade antifúngica foi obtida para as outras técnicas de extração e condições ESC.

Não foi detectada atividade antifúngica (> 1000 µg mL⁻¹) contra *E. floccosum* por SOX-EtOH, MAC-EtOH, MAC-HEX ou ESC nas condições 50 °C/20 MPa/3 mL min⁻¹ e 45 °C/16 MPa/3,5 mL min⁻¹.

Não foi detectada atividade antibacteriana pelo método CMI.

Poucos estudos relataram atividade antimicrobiana para SJ; portanto, poucos estudos estão disponíveis para comparação direta com o presente estudo. Apesar desta limitação, os estudos disponíveis sugerem que o extrato de SJ possui atividade antifúngica e antibacteriana. Por exemplo, Okoye (2016) avaliou o uso do extrato de SJ obtido por SOX-HEX e determinou, assim como no presente estudo, boa atividade antifúngica, como no caso de *T. microsporium* e *M. globosum*, bem como baixa atividade antibacteriana para *S. aureus*.

Os estudos de Khan, Omoloso e Kihara (2003) e Theivasanthi et al. (2011) avaliaram o efeito antibacteriano de SJ. Os autores indicaram o potencial antibacteriano de nanopartículas contra *E. coli* e *B. megaterium*. Os últimos autores ainda indicaram atividade antibacteriana contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, entre outros. Esses resultados divergem dos resultados do presente estudo, pois, quando avaliada a CMI não foi detectada atividade antibacteriana para nenhuma das técnicas de extração empregadas ou condições ESC.

Como observado acima, a diferença entre os resultados obtidos e os resultados apresentados pela literatura podem estar relacionados aos métodos de extração, análise e microorganismos utilizados ou aspectos ambientais, como a localização da planta que pode influenciar o perfil químico (MAZZUTTI et al., 2012; PEREIRA; MEIRELES, 2010).

Tabela 17 - Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos de SJ para fungos

	Concentração Mínima Inibitória ($\mu\text{g mL}^{-1}$)						
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>	<i>Microsporium canis</i>	<i>Microsporium gypseum</i>	<i>Rhizopus sp.</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Candida albicans</i>
SOX EtOH	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	> 1000	> 1000
SOX HEX	> 1000	1000	250	500	1000	500	> 1000
MAC EtOH	> 1000	> 1000	500	500	> 1000	500	> 1000
MAC HEX	> 1000	> 1000	500	1000	> 1000	1000	> 1000
40 °C/12 MPa/3 mL min ⁻¹	> 1000	1000	250	500	> 1000	500	> 1000
50 °C/12 MPa/3 mL min ⁻¹	> 1000	1000	125	1000	> 1000	500	> 1000
40 °C/20 MPa/3 mL min ⁻¹	> 1000	1000	250	1000	> 1000	500	> 1000
50 °C/20 MPa/3 mL min ⁻¹	> 1000	> 1000	500	1000	> 1000	1000	> 1000
40 °C/12 MPa/4 mL min ⁻¹	> 1000	1000	250	1000	> 1000	1000	> 1000
50 °C/12 MPa/4 mL min ⁻¹	> 1000	1000	500	1000	> 1000	1000	> 1000
40 °C/20 MPa/4 mL min ⁻¹	> 1000	1000	500	1000	> 1000	1000	> 1000
50 °C/20 MPa/4 mL min ⁻¹	> 1000	1000	250	1000	> 1000	500	> 1000
37,9 °C/16 MPa/3,5 mL min ⁻¹	> 1000	1000	125	500	> 1000	500	> 1000
52,1 °C/16 MPa/3,5 mL min ⁻¹	> 1000	1000	500	500	> 1000	500	1000
45 °C/10,4 MPa/3,5 mL min ⁻¹	> 1000	1000	250	1000	> 1000	1000	> 1000
45 °C/21,6 MPa/3,5 mL min ⁻¹	> 1000	1000	1000	1000	> 1000	500	> 1000
45 °C/16 MPa/2,8 mL min ⁻¹	> 1000	1000	500	500	> 1000	250	> 1000
45 °C/16 MPa/4,2 mL min ⁻¹	> 1000	1000	500	500	> 1000	500	> 1000
45 °C/16 Mpa/3,5 mL min ⁻¹	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	1000	> 1000
45 °C/16 Mpa/3,5 mL min ⁻¹	> 1000	> 1000	1000	1000	> 1000	1000	> 1000
Cetoconazol	8	0,5	8	6	8	8	7

Fonte: Autora

4.3.4.2.6 Ensaio de toxicidade celular

Os extratos SOX-EtOH e MAC-EtOH, não apresentaram toxicidade para as células L929 nas concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de meio (Figura 15). Os extratos das TCE (HEX e EtOH) e ESC na concentração de 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ também não se apresentaram tóxico para células da linhagem RAW 264.7.

Os extratos SOX-HEX, MAC-HEX e ESC causaram redução da viabilidade celular com o aumento da concentração de extrato para as células L929. Nos extratos da TCE-HEX a redução da viabilidade celular ocorreu de maneira semelhante com o aumento da concentração de extrato para SOX-HEX (100 a 88,12%) e para MAC-HEX (84,47 a 25,69 %). Para extratos da ESC, a redução na viabilidade ocorreu em ESC1 (98,52 a 73,66%), ESC8 (100 a 83,72%) e ESC16 (100 a 75,65%). O uso da técnica HEX e ESC resultou em viabilidade celular reduzida com aumento da concentração do extrato, isto é, fenômeno chamado de dose dependente (HARYOTO; WIDOWATI, 2018).

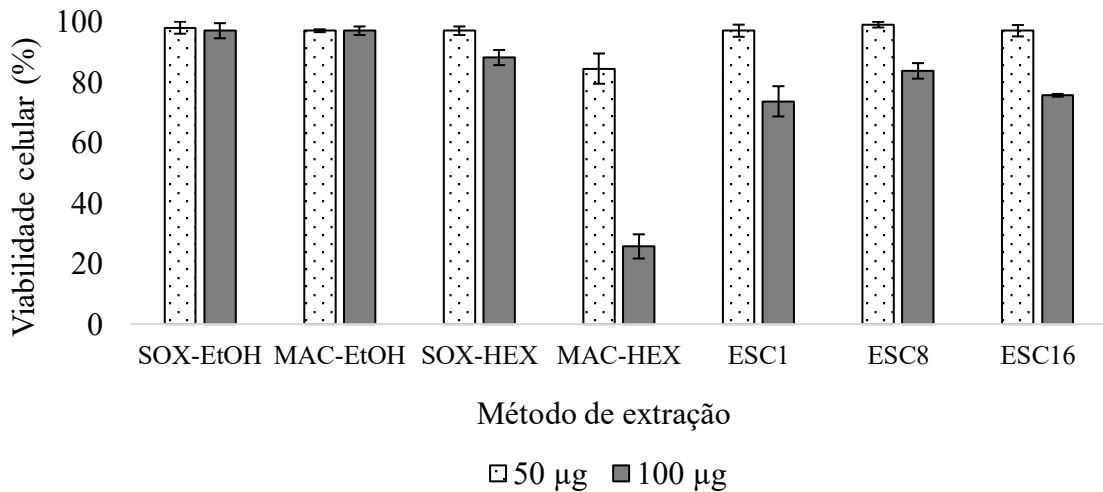
Burci et al. (2018) assim como Patel e Patel (2011) estudaram a citotoxicidade do extrato de SJ obtido por EtOH e metanol, respectivamente, para células normais de fibroblastos de camundongo (L929) e células de rim embrionário humano normal (HEK293) e não detectaram toxicidade. Esses resultados estão de acordo com os resultados obtidos no presente estudo, para EtOH. Matsuo et al. (2005) avaliaram a citotoxicidade de flavonoides, presentes na SJ, em células humanas normais e concluíram que estes compostos exercem influência benéfica sobre as células, no entanto, pode ser tóxico em concentrações elevadas devido ao aumento do nível das espécies reativas de oxigênio (EROs).

Zuraidah, John e Kamaruzzaman (2017) avaliaram o potencial uso da extração de jacaína no extrato de SJ. Jacaína é uma proteína de alto valor presente na SJ. O uso dessa proteína contra células de câncer de mama humano (MCF7) apresentou resultados positivos. Burci et al. (2018) estudaram a eficácia do extrato etanólico da fração líquido-líquido de SJ em células de câncer de mama (T47D), câncer de cólon (TH29), melanoma (B16F10) e evidenciaram que o extrato apresentou atividade contra células tumorais. Haryoto e Widowati (2018), bem como Patel e Patel (2011) avaliaram o extrato metanólico de sementes e folhas de *Artocarpus heterophyllus* e concluíram que não houve ou houve baixo potencial para toxicidade do câncer de mama (MCF7) e linhagem de células do câncer cervical (HeLa).

O presente estudo mostrou que o extrato de SJ com EtOH não apresentou toxicidade para as células L929, até a concentrações de 100 μg de extrato. Para os macrófagos RAW 264.7 não houve redução da viabilidade celular até a concentração de 30 μg de extrato para nenhum

dos extratos das TCE e ESC testados, no entanto, a literatura reporta que os extratos são eficazes contra alguns tipos de câncer. Estudos mais específicos devem ser realizados para definir o mecanismo de ação dos extratos.

Figura 15 - Citotoxicidade dos extratos de SJ determinados pelo método colorimétrico do reagente MTT para células L929



Fonte: Autora

4.3.4.2.7 Inibição da produção de óxido nítrico

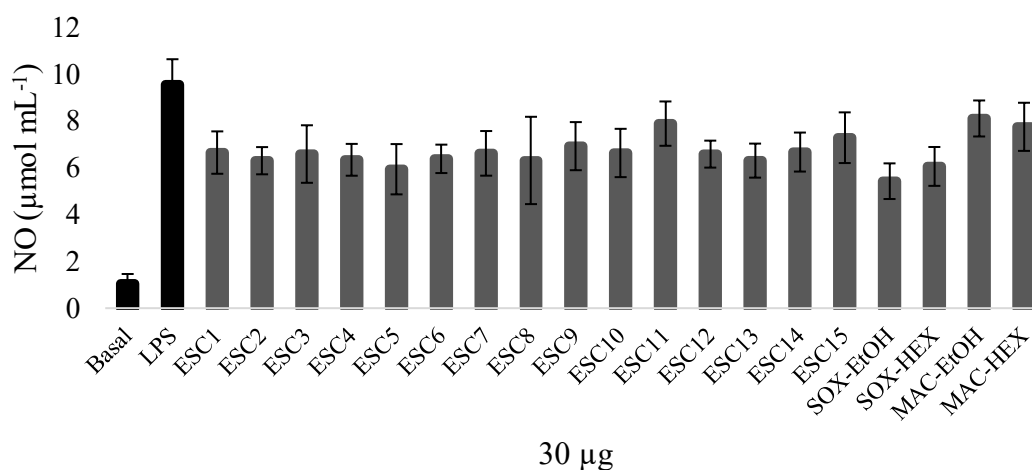
Um dos princípios preliminares da análise da atividade anti-inflamatória é a quantificação da inibição do NO, que é produzido devido à ativação do sistema imunológico que reage à inflamação, conforme demonstrado experimentalmente em seres humanos e animais (GRISHAM; JOHNSON; LANCASTER, 1996). Diversos autores têm avaliado a atividade anti-inflamatória do gênero *Artocarpus*, principalmente de *Artocarpus heterophyllus* e *Artocarpus altilis* (AMPONSAH et al. 2014; CHANDA; CHANDA; DUTTA, 2009; FAKHRUDIN et al. 2015; FANG; HSU; YEN, 2008; MEERA et al. 2017; MUNIRA et al. 2015; WEI et al. 2005).

A inibição do NO foi avaliada para os diferentes extratos das TCE e ESC obtidos a partir de SJ (Figura 16). A primeira coluna (Basal) trata-se da geração de NO quando se considera apenas os macrófagos e o meio de cultura. A segunda coluna trata-se da produção de NO para macrófagos induzidos por LPS sem qualquer tratamento. As demais colunas apresentam os resultados dos diferentes tratamentos aplicados. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre as amostras de LPS, MAC-EtOH, MAC-HEX e ESC11, ou seja, não houve inibição da produção de NO. As demais amostras apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$).

quando comparadas ao padrão LPS, indicando que houve inibição da formação de NO nas amostras com o tratamento aplicado.

Fang, Hsu e Yen (2008) e Wei et al. (2005) avaliaram o efeito anti-inflamatório *in vitro* de *Artocarpus heterophyllus* de RAW 264.7 induzido por LPS. Os autores concluíram que a inibição do NO ocorreu satisfatoriamente, bem como os resultados obtidos por este estudo. Fang, Hsu e Yen (2008) também concluíram que o composto bioativo isolado de SJ que apresentou o melhor resultado foi a artocarpin, um metabólito secundário que pertencente à classe dos flavonóides. Em todos os estudos citados, foi relatado que o efeito anti-inflamatório se mostrou dependente da concentração de extrato empregada.

Figura 16 - Avaliação da inibição de NO através da aplicação de extratos de SJ obtidos de TCE e ESC



Fonte: Autora

4.4 RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Para indicar os resultados experimentais de forma simplificada, foi elaborado um esquema com indicação colorimétrica para os principais resultados (Tabela 18).

Tabela 18 - Resumo dos principais resultados experimentais

Solvente	SOX		MAC		ESC
	EtOH	HEX	EtOH	HEX	CO ₂
Rendimento global	●	●	●	●	●
ABTS	●	●	●	●	●
DPPH	●	●	●	●	●
CFT	●	●	●	●	●
Atividade Antifúngica	●	●	●	●	●
Atividade Antibacteriana	●	●	●	●	●
Atividade fotoprotetora	●	●	●	●	●
Citotoxicidade L929 (50 -100 µg mL ⁻¹)	●	●	●	●	●
Citotoxicidade RAW 264.7 (30 µg mL ⁻¹)	●	●	●	●	●
Inibição NO RAW 264.7 (30 µg mL ⁻¹)	●	●	●	●	●

●	●	●	●	●
Muito bom	Bom	Regular	Ruim	Muito ruim

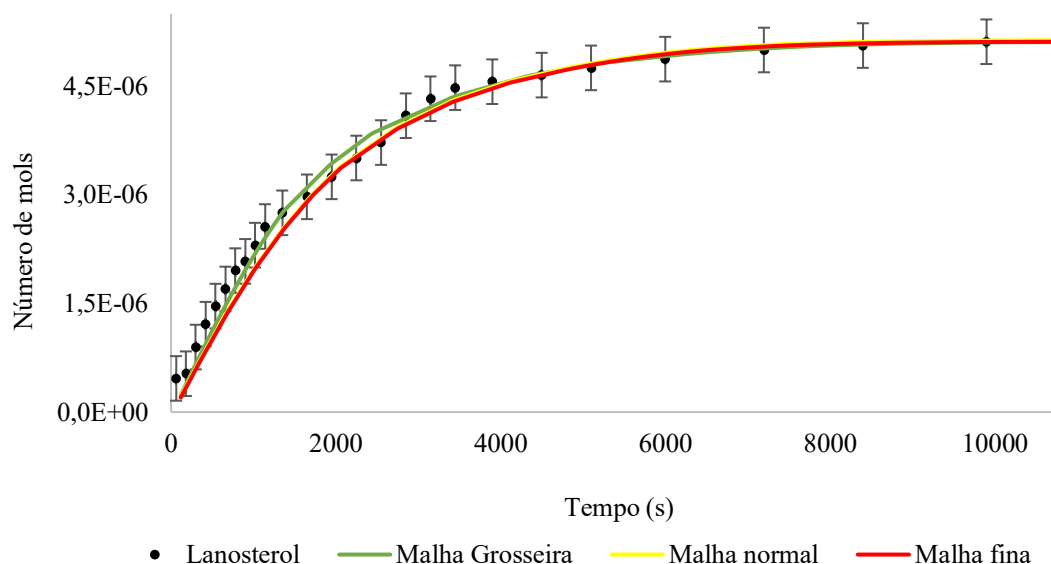
Fonte: Autora

Em caráter geral, o extrato que apresentou os melhores resultados, foi SOX-EtOH, que foi muito bom para capacidade antioxidante, rendimento global, citotoxicidade e ação anti-inflamatória, pela inibição da produção do NO. A MAC-EtOH apresentou resultados bons para rendimento global, capacidade antioxidante, atividade antifúngica e citotoxicidade. Os extratos obtidos por HEX em geral foram regulares ou ruins, indicando que este não é um bom solvente para a extração de SJ. Os extratos da ESC tiveram resultados positivos mais específicos, como é o caso da melhor atividade antifúngica, citotoxicidade e inibição da produção do NO. A ESC se mostrou mais restrita que as extrações com EtOH. As extrações com EtOH produziram extratos com uma ampla gama de compostos e diversas funcionalidades, porém com as limitações técnicas da extração convencional (longos períodos de extração, pós-processamento dos extratos, utilização de elevadas temperaturas). Por outro lado, os extratos obtidos por ESC apresentaram bons resultados, porém para aplicações mais específicas.

4.5 MODELAGEM MATEMÁTICA – ESC

Foram realizadas simulações com malhas de diferentes números de elementos (Tabela 19), para avaliar o custo/benefício de cada simulação. Os valores referentes aos parâmetros de adequação e características da malha são fundamentais para comparar as simulações diretamente. Utilizou-se um conjunto de dados experimentais (9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3β, 4α, 5α), 50 °C/20MPa/4mL min⁻¹) para avaliar o ajuste do modelo com três diferentes malhas (Figura 17).

Figura 17 - Número de mols extraídos acumulados em função do tempo com diferentes malhas empregadas para 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3 β , 4 α , 5 α) na condição 50 °C/20 MPa/4 mL min⁻¹



Fonte: Autora

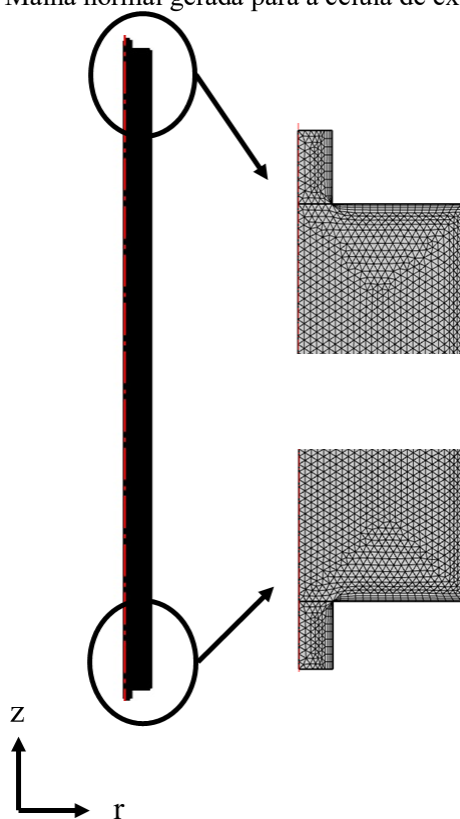
Tabela 19- Dados de adequação das curvas simuladas

Tipo de malha	Número de elementos	Qualidade dos elementos	Graus de liberdade	Tempo de simulação (min)
Fina	56094	0,9347	1053381	94,5
Normal	32058	0,9274	660599	47,5
Grosseira	9598	0,9074	197602	15,1

Fonte: Autora

As curvas simuladas com as diferentes malhas têm ajustes similares aos dados experimentais e se posicionam particularmente bem em relação a estes a partir de aproximadamente 2000 s. Tendo em vista os resultados e os tempos requeridos, optou-se pela malha intermediária (normal, na Figura 18) para a realização de todas as simulações.

Figura 18 - Malha normal gerada para a célula de extração



Fonte: Autora

A partir desta seção, serão apresentados os resultados obtidos para a modelagem matemática da extração ESC dos compostos 13,27cicloursan-3-one, lanosterol e 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α) da extração de *Artocarpus heterophyllus* nas condições de 12 MPa/40 °C/3 mL min⁻¹, 16 MPa/45 °C/3,5 mL min⁻¹ e 20 MPa/50 °C/4 mL min⁻¹ considerando partículas S1 e S2, como parte do esforço para discernir o comportamento do sistema e determinar as melhores condições operacionais para o processo.

4.5.1 Modelagem matemática para partículas S1

Os resultados serão apresentados por condição de extração. Os compostos que foram escolhidos para simulação apresentaram maior proporção mássica com relação ao extrato, uma vez que não houve a presença de um composto predominante. Optou-se por fazer a simulação por compostos, ao considerá-los individualmente é possível estimar parâmetros com mais facilidade do que uma mistura de compostos pouco definida.

4.5.1.1 Modelagem da condição operacional de 12 MPa/40 °C/3 mL min⁻¹

Para a simulação, foram consideradas as condições operacionais e as propriedades do fluido (Tabela 20) de acordo com a temperatura e pressão empregadas.

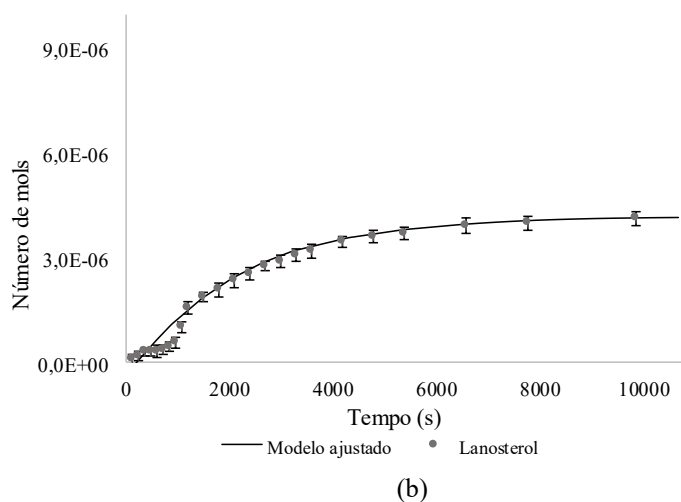
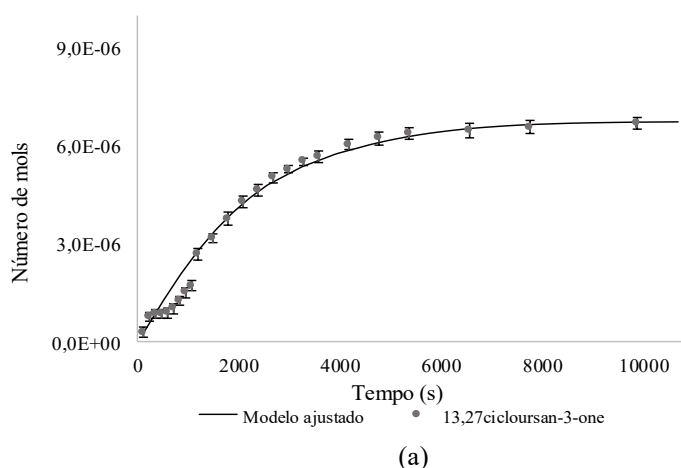
Tabela 20 - Condições operacionais e do fluido

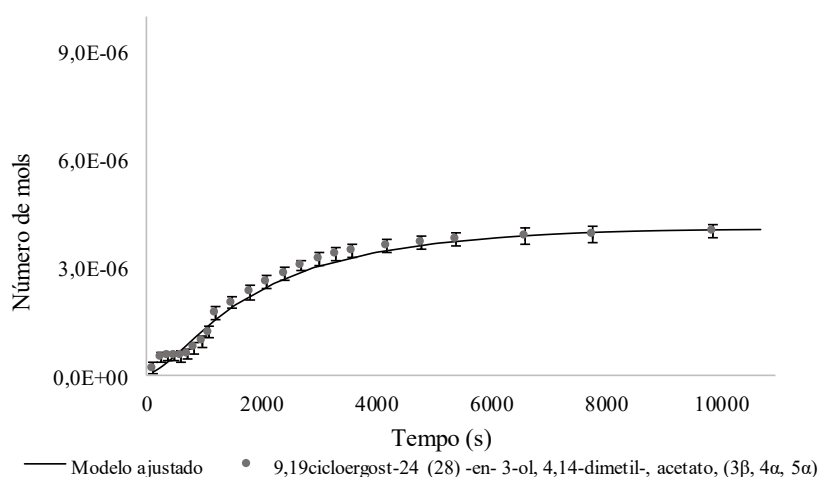
P	T	ρ_{CO_2}	μ_{CO_2}	Q_{mCO_2L}	Q_{vCO_2L}	v
MPa	°C	kg m ⁻³	Pa s	kg s ⁻¹	m ³ s ⁻¹	m s ⁻¹
12	40,0	717,8	5,85E-05	5,01E-05	6,98E-08	8,89E-04

Fonte: Autora

A apresentação do modelo ajustado aos dados experimentais foi elaborada em função do tempo e do número de mols de cada componente em questão (Figura 19).

Figura 19 – Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3 β , 4 α , 5 α)





(c)

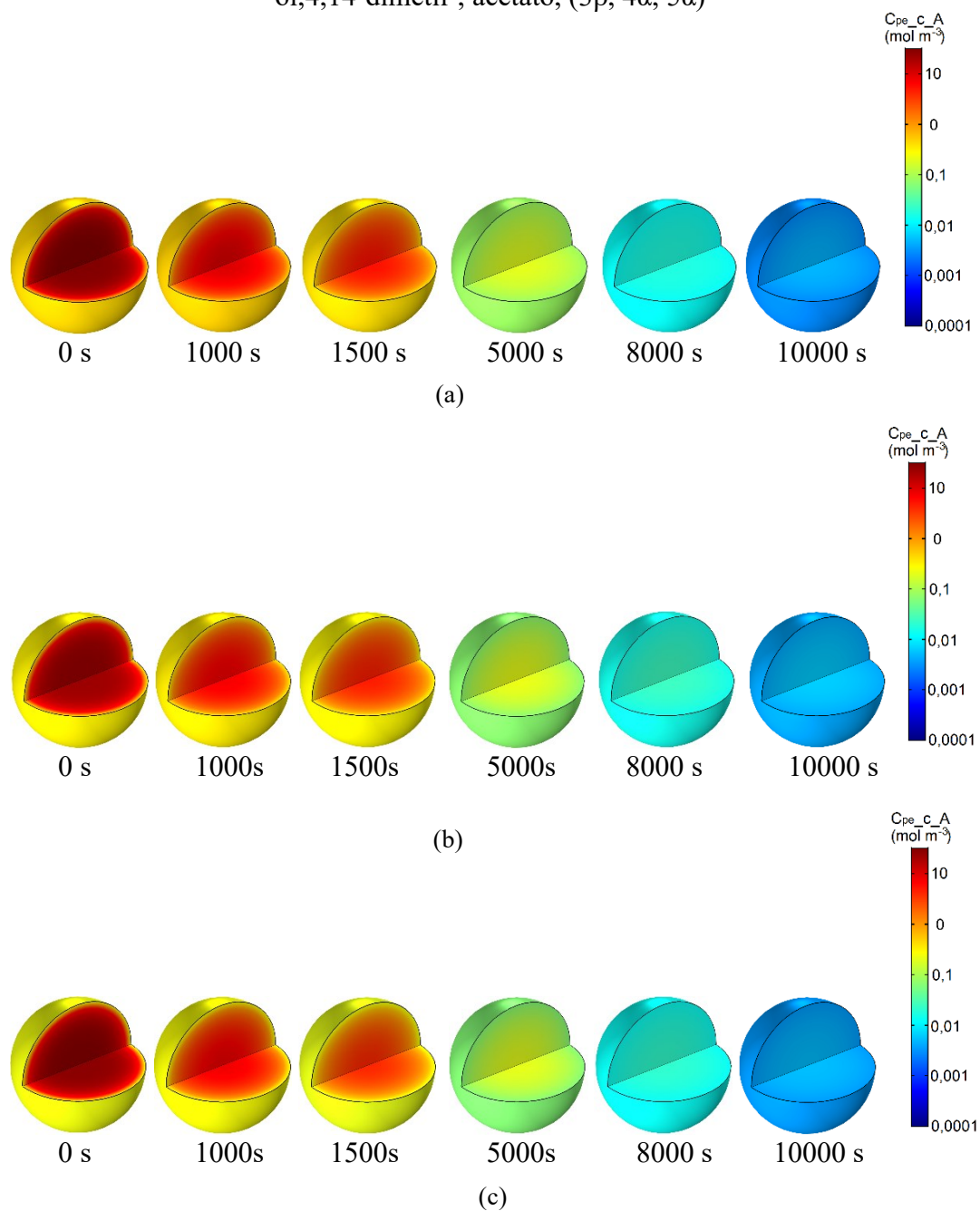
Fonte: Autora

O composto 13,27cicloursan-3-one apresentou maior número de mols ao longo da extração. As extrações nesta condição apresentaram uma etapa inicial lenta na curva dinâmica, até aproximadamente 2000 s. Este comportamento não parece ser típico das curvas de extração, diversos testes foram realizados para avaliar a causa deste comportamento e acredita-se esteja relacionado à densidade do CO₂. Quanto menor a densidade empregada, maior foi a mudança de comportamento que ocorreu no início da curva de extração, uma vez que a densidade do solvente está relacionada ao poder de solvatação, pois quanto maior a densidade utilizada, maior a massa de fluido por unidade de volume, que resulta na maior interação entre soluto/solvente (REVERCHON; De MARCO, 2006).

Deve-se considerar que a matriz de extração são sementes e o óleo contido em seu interior está armazenado em cavidades cujas paredes são relativamente permeáveis e por esta razão se faz necessário um pré-tratamento, por exemplo, moagem (SOVOVÁ, 2005). Devido às características das sementes e da menor densidade do CO₂, a extração apresentou um período mais lento, uma vez que o CO₂ permeia com mais dificuldade a matriz vegetal e retarda a solubilização dos compostos e sua retirada por difusão. Esta etapa, foi perceptível durante os experimentos; por aproximadamente 20 minutos, pouco ou quase nenhum extrato foi obtido. Decorrida esta etapa, a extração ocorreu normalmente. Este estágio inicial da extração não foi considerado no modelo matemático proposto, embora algumas estratégias, como incluir o efeito da difusão do CO₂ nas partículas, tenham sido testadas, mas sem sucesso.

O modelo matemático permitiu descrever o fenômeno da extração por difusão no interior de uma partícula unitária, acompanhando o seu desenvolvimento ao longo do tempo, para qualquer posição dentro da coluna (Figura 20).

Figura 20 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer no interior da coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)



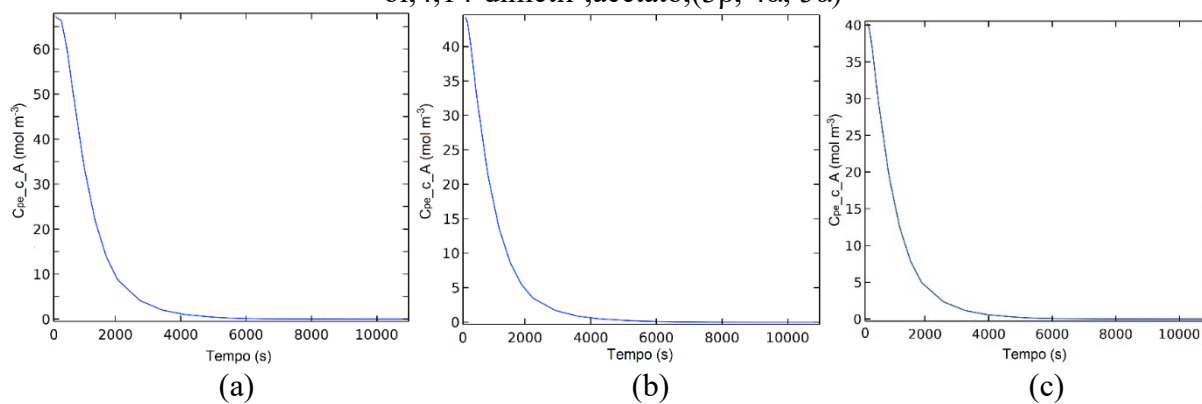
Fonte: Autora

Deve-se ter em conta que o tempo de 0 s na Figura 20 é contado a partir do início do escoamento de CO₂. Os resultados apresentados correspondem a valores médios na coluna para uma partícula qualquer em seu interior. Foi denominado como uma partícula qualquer, pois, testes da simulação indicaram que independente da localização da partícula, ao longo da coluna de extração, o resultado para concentração foi semelhante e esta característica está relacionada com o fenômeno chamado *plug flow*, que atua formando uma frente de extração uniforme no

leito de extração (DEL VALLE, 2015; SOVOVÁ, 2005). Este fenômeno ocorre em função das pequenas dimensões da coluna e de uma vazão relativamente elevada do solvente, que não permitem maiores variações de concentração dos compostos de extração no CO₂ supercrítico que flui no espaço interparticular ao longo do leito.

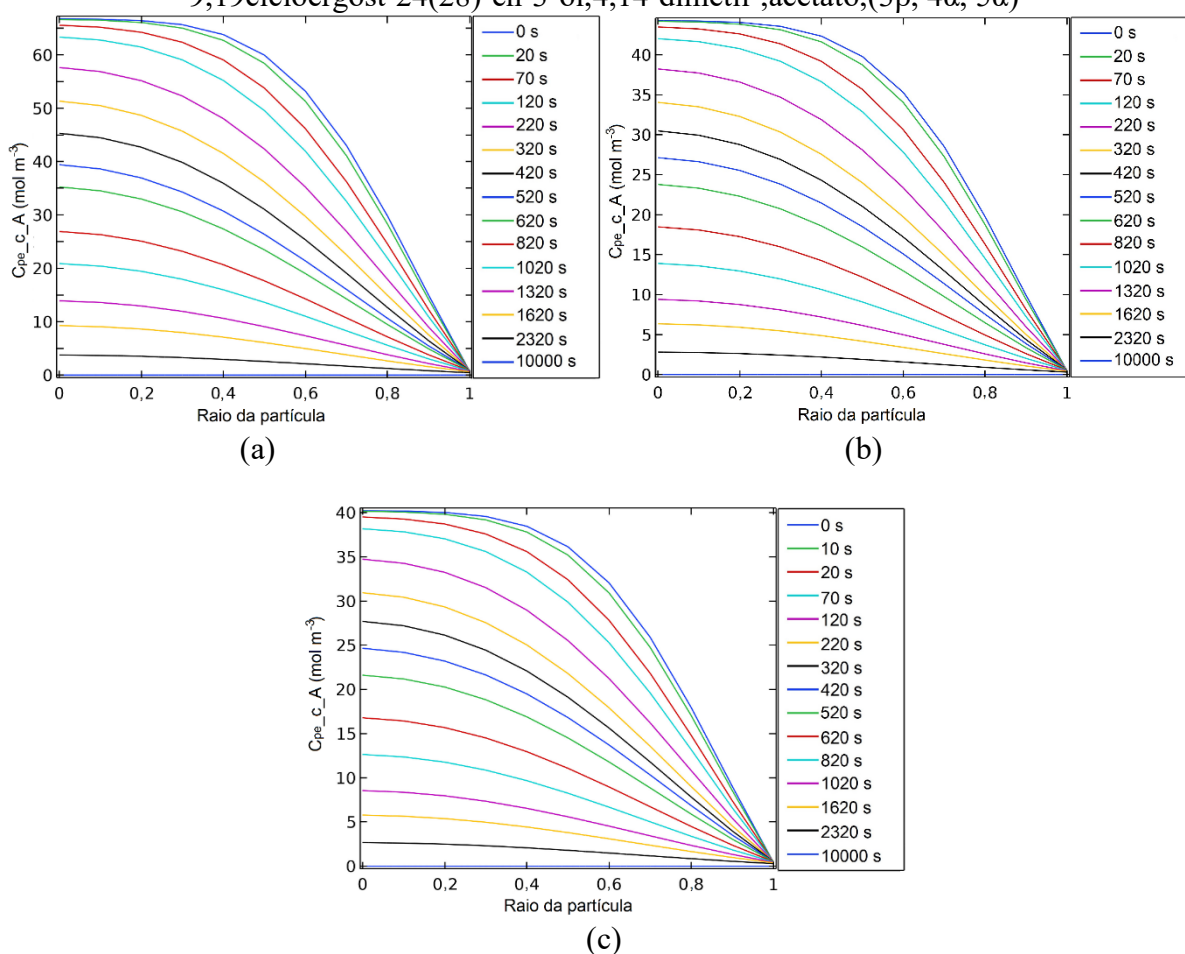
A estimativa da concentração superficial das partículas é resultante do valor médio de concentrações externa vizinha à superfície da partícula e interna vizinha à esta mesma superfície, o que causa esta aparência de “casca”, nas primeiras imagens referente aos tempos de 0, 1000 e 1500 s. Pela escala logarítmica de cores adotada na representação gráfica não foi possível perceber grande diferença entre os resultados para os diferentes compostos, uma vez que as concentrações iniciais são muito parecidas, principalmente para (b) e (c). Os compostos em questão são de estruturas similares, pois apresentam moléculas de cadeias longas e por isso os parâmetros estimados são semelhantes. Para melhor perceber a redução da concentração dos compostos no interior da partícula, faz-se necessário avaliar cada caso (Figura 21 e Figura 22).

Figura 21 - Redução da concentração média dos compostos no centro da partícula qualquer ao longo do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



A Figura 21 trata da redução da concentração média no centro da partícula de 0-10000 s.

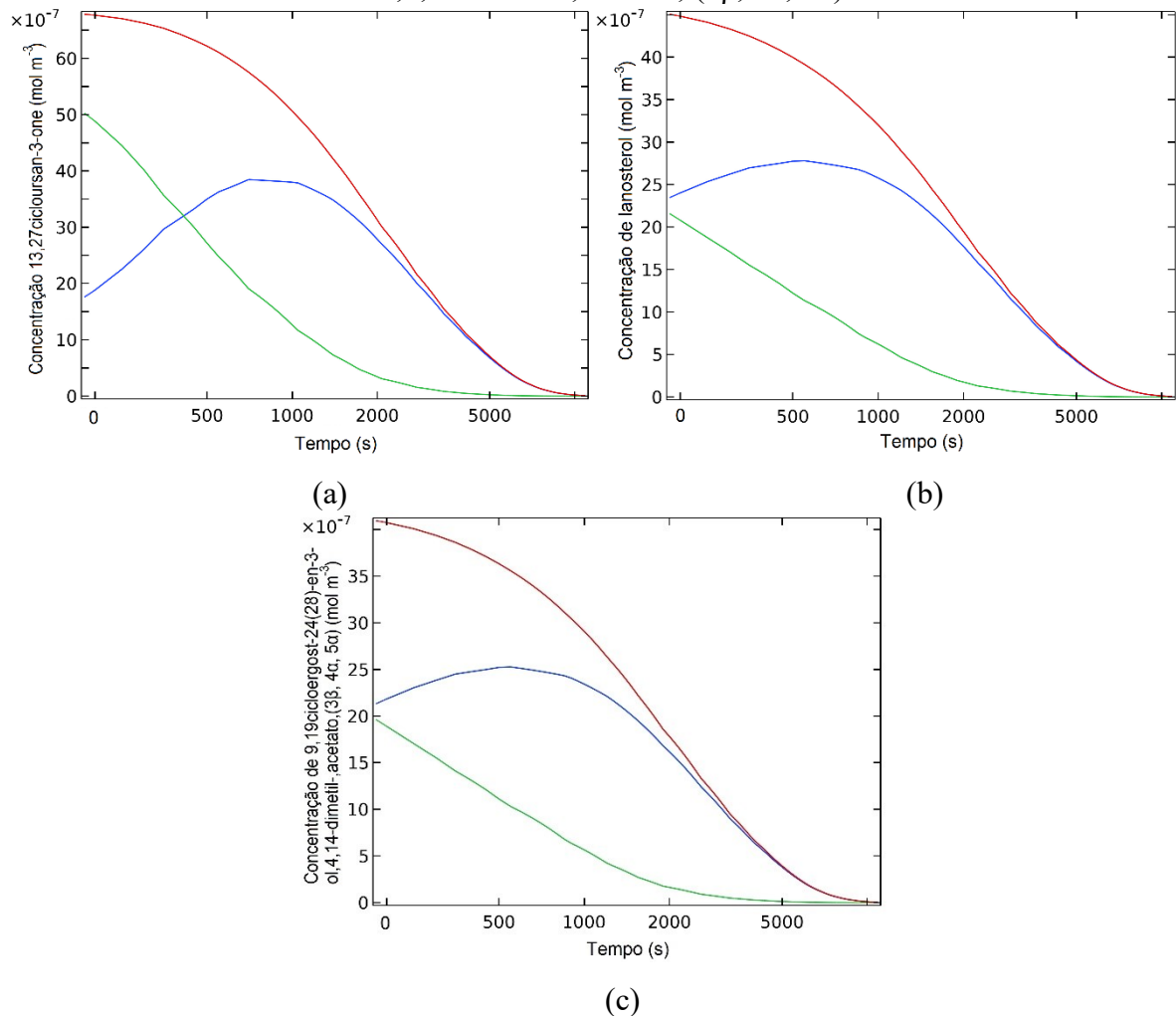
Figura 22 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



Fonte: Autora

Considerou-se que a resistência externa é muito baixa, e que todo o composto que é extraído da partícula é solubilizado e imediatamente levado pela fase fluida, sem qualquer efeito de adsorção soluto/matriz vegetal (SOVOVÁ, 2005). O resultado experimental e o correspondente da simulação indicam que a extração dos compostos para as condições estabelecidas acontece até 4000 s, onde a concentração dos componentes atinge valores muito baixos. Após este período, apenas pequenas quantidades de extrato são obtidas, evidenciando que a difusão é o mecanismo de transferência de massa que domina o processo de extração (Da SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016). O acompanhamento dos perfis no interior da partícula e da coluna indicam como os processos estão relacionados (Figura 23).

Figura 23 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)



Legenda: Linha verde – concentração do componente na partícula; Linha azul – concentração do componente na fase fluida; Linha vermelha - soma das concentrações do componente na fase fluida e na partícula.

Fonte: Autora

Inicialmente a concentração do soluto na fase fluida não é igual a zero e a concentração do soluto na partícula também não é a concentração inicial da operação, isto ocorre pois t_0 representado no gráfico acontece após a extração estática que é de 180 s; portanto, parte da massa do soluto na partícula já foi transferida para a fase fluida. Após t_0 , pode-se perceber que a concentração no líquido aumenta, devido a transferência do soluto da partícula para o fluido, até que chega em seu máximo e começa a reduzir, indicando a saída do soluto da coluna. Os parâmetros de transferência de massa são indispensáveis para avaliar como ocorre este processo de extração (Tabela 21).

Tabela 21 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa

Compostos	Df,c_A m ² s ⁻¹	Df,c_CO ₂ m ² s ⁻¹	hDc_A m s ⁻¹	hDc_CO ₂ m s ⁻¹	Dpe,c_A m ² s ⁻¹	Dpe,c_CO ₂ m ² s ⁻¹
13,27cicloursan-3-one	5,50E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,00E-11	3,00E-10
Lanosterol	5,46E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	1,98E-11	2,90E-10
9,19ciclobergost-24(28)- en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3β, 4α, 5α)	5,32E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	1,93E-11	2,87E-10

Fonte:Autora

Para a obtenção dos parâmetros de transferência de massa e uniformização dos resultados obtidos, alguns dos parâmetros foram fixados (Df,c_CO₂, hDc_CO₂ e Dpe,c_CO₂), por tratar-se do mesmo componente e/ou das mesmas condições de temperatura e pressão. O parâmetro Df,c_A foi calculado pela equação de Wilke-Chang, que conforme os autores (FERREIRA,1996; SILVA et al., 2004; VAZ et al., 2016) fornece um valor muito próximo aos valores medidos experimentalmente, apesar de ser uma equação para líquidos, indicando uma faixa de desvio de 3 a 6% (SILVA et al., 2004; VAZ et al., 2016). Os valores hDc_A e Dpe,c_A foram ajustados aos dados experimentais. Os valores obtidos para estes parâmetros são semelhantes entre si, assim como os compostos de interesse. O parâmetro hDc_A regula a resistência externa a transferência de massa, enquanto Dpe,c_A regula a resistência interna à transferência de massa e controla a velocidade de extração dos compostos até seu esgotamento.

Nas simulações não se verificou gradientes de concentração na direção radial da coluna, o que se viu foi uma frente que ao avançar longitudinalmente alterava todo o leito por igual; isto devido à rápida extração e à relação de tamanho entre comprimento e raio da coluna de extração. Este padrão de transporte é chamado de *plug flow*, que corresponde a um processo de extração onde há gradientes de concentração com o tempo e a posição axial, mas não com a posição radial no leito (DEL VALLE, 2015; SOVOVÁ, 2005).

4.5.1.2 Modelagem da condição operacional de 16 MPa/45 °C/3,5 mL min⁻¹

Para a simulação, foram consideradas as condições operacionais e as propriedades do fluido (Tabela 22).

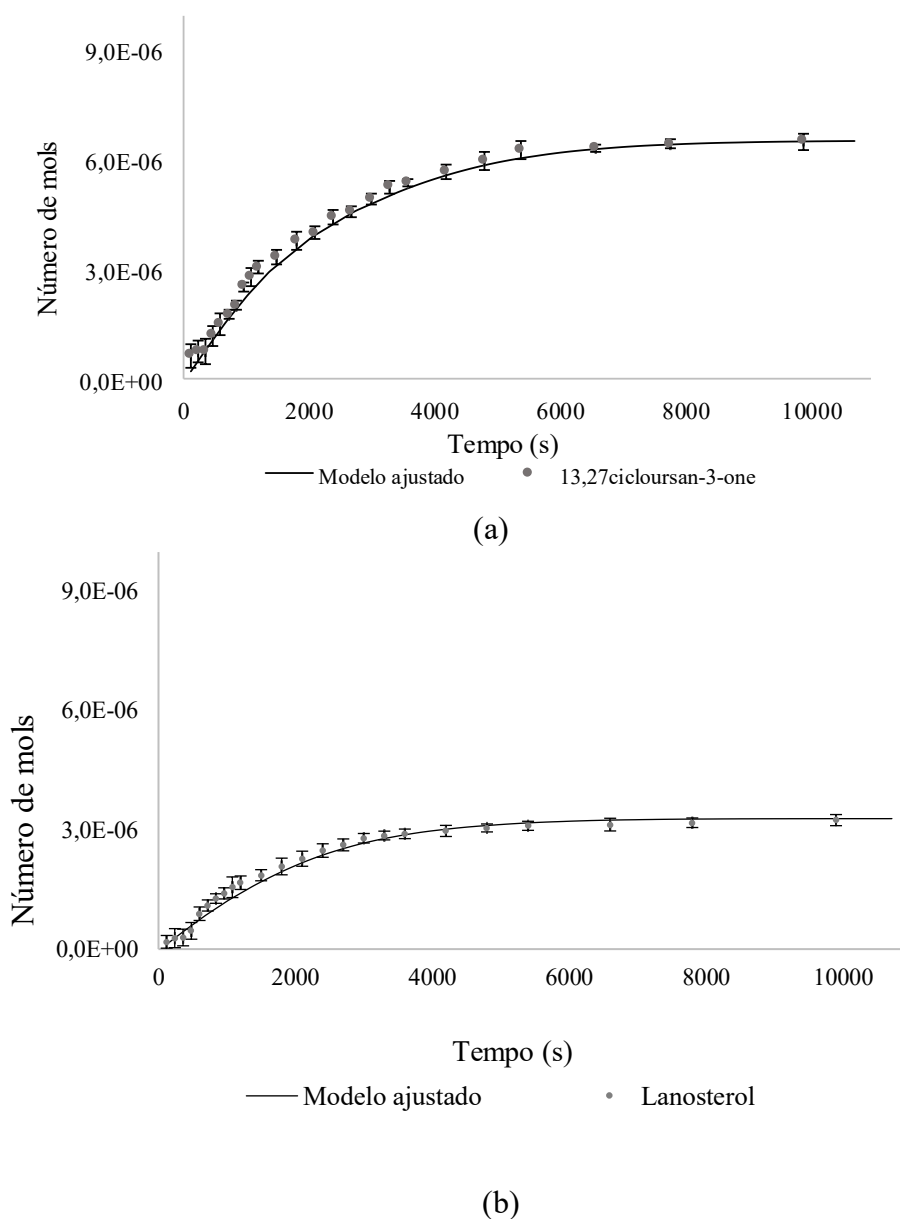
Tabela 22 - Condições operacionais e do fluido

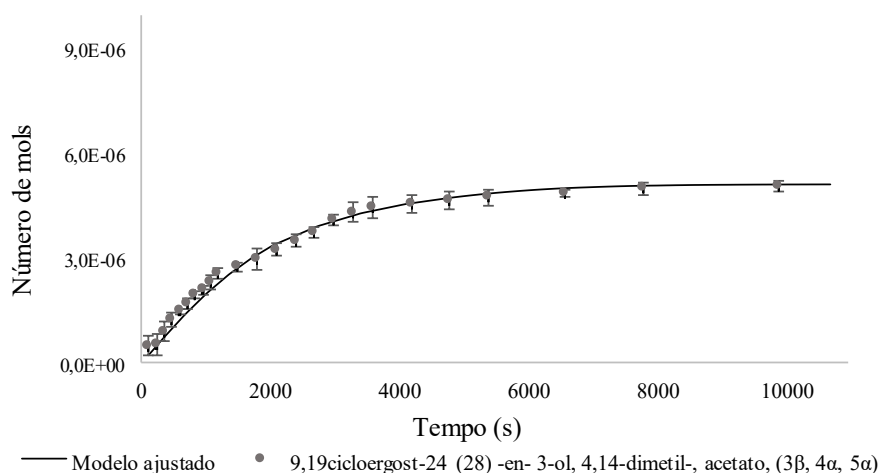
P	T	ρ _{CO₂}	μ _{CO₂}	Q _{mCO₂L}	Q _{VCO₂L}	v
MPa	°C	kg m ⁻³	Pa s	kg s ⁻¹	m ³ s ⁻¹	m s ⁻¹
16	45,0	760,0	7,02E-05	5,85E-05	7,69E-08	9,79E-04

Fonte: Autora

Para esta condição de extração, ocorreu redução na extração de lanosterol e 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3β , 4α , 5α), enquanto 13,27cicloursan-3-one manteve a mesma proporção mássica de extração (Figura 24). Este resultado está relacionado com as condições de extração e a relação que ocorre entre a pressão de vapor do soluto e a solubilidade dos compostos nas condições estabelecidas (CADENA-CARRERA et al., 2019; MAZZUTTI et al., 2017).

Figura 24 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3β , 4α , 5α)





(c)

Fonte: Autora

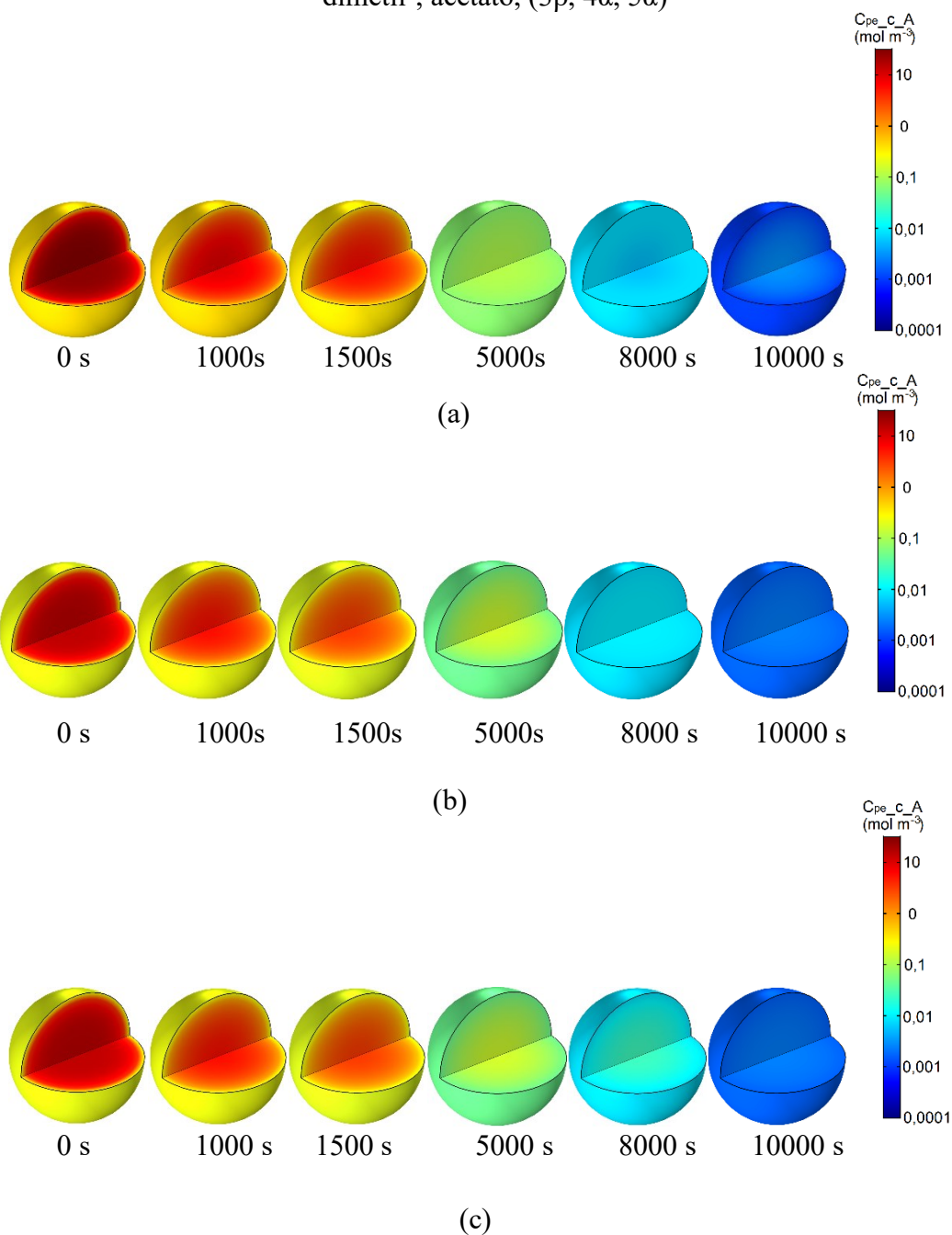
Tanto nos dados experimentais quanto no modelo matemático é possível perceber que existem três etapas distintas na extração, a primeira etapa de 0-1500 s, que se trata de uma taxa de extração aproximadamente constante, onde se estima que 50-90 % da massa de extrato é obtida (PEREIRA; MEIRELES, 2010). O segundo período de 1500-4000 s, um período de taxa decrescente, onde as taxas de extração começam a ser menores e o terceiro período 4000-10000 s, onde a taxa de extração é baixa e a difusão domina o processo de extração (Da SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

Para a condição de 16 MPa/45 °C/3,5 mL min⁻¹, houve incremento da densidade do CO₂ de 717 kg m⁻³ para 760 kg m⁻³ e conseqüentemente redução na mudança de comportamento da curva de extração, onde percebe-se uma pequena estagnação nos primeiros quatro pontos de coleta de extrato (8 min).

O modelo matemático subestimou os valores experimentais de massa extraída acumulada, principalmente até os 2000 s, no entanto, após este período, convergem para o mesmo ponto devido à condição inicial que foi fornecida. Esta diferença pode estar acontecendo devido ao modelo considerar que as partículas são esferas perfeitas, enquanto as partículas utilizadas passaram por um processo de moagem, são irregulares e de tamanhos distintos dentro da faixa utilizada. Por considerar esferas perfeitas, o cálculo pode ter estimado menor de número de mols sendo extraído inicialmente, enquanto as partículas quebradas de forma aleatória propiciam maior disponibilidade de extrato de fácil acesso, que é extraído na etapa inicial de carregamento e estabelecimento das condições supercríticas.

O modelo matemático permitiu descrever o fenômeno da extração por difusão no interior de uma partícula unitária, acompanhando o seu desenvolvimento ao longo do tempo, para qualquer posição dentro da coluna (Figura 25).

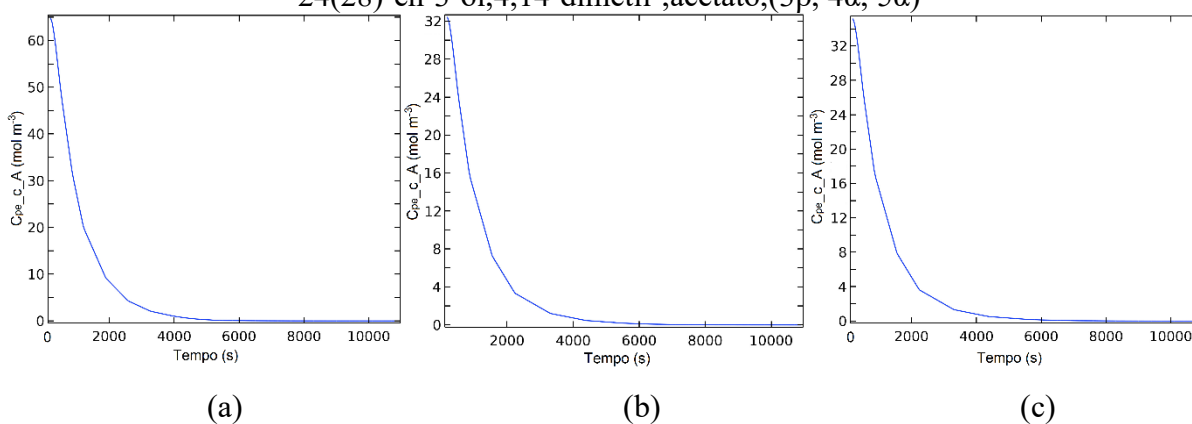
Figura 25 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)



Fonte: Autora

Deve-se levar em conta que o tempo de 0 s, na Figura 25 é contado a partir do início do escoamento de CO₂, ou seja, a fase estática não foi considerada e que os resultados apresentados correspondem a valores médios na coluna para uma partícula qualquer em seu interior. Assim como no caso anterior, a concentração inicial de 13,27cicloursan-3-one é maior que os outros compostos, a extração dos compostos ao longo do tempo deve ser observada para avaliar o comportamento do processo (Figura 26 e Figura 27).

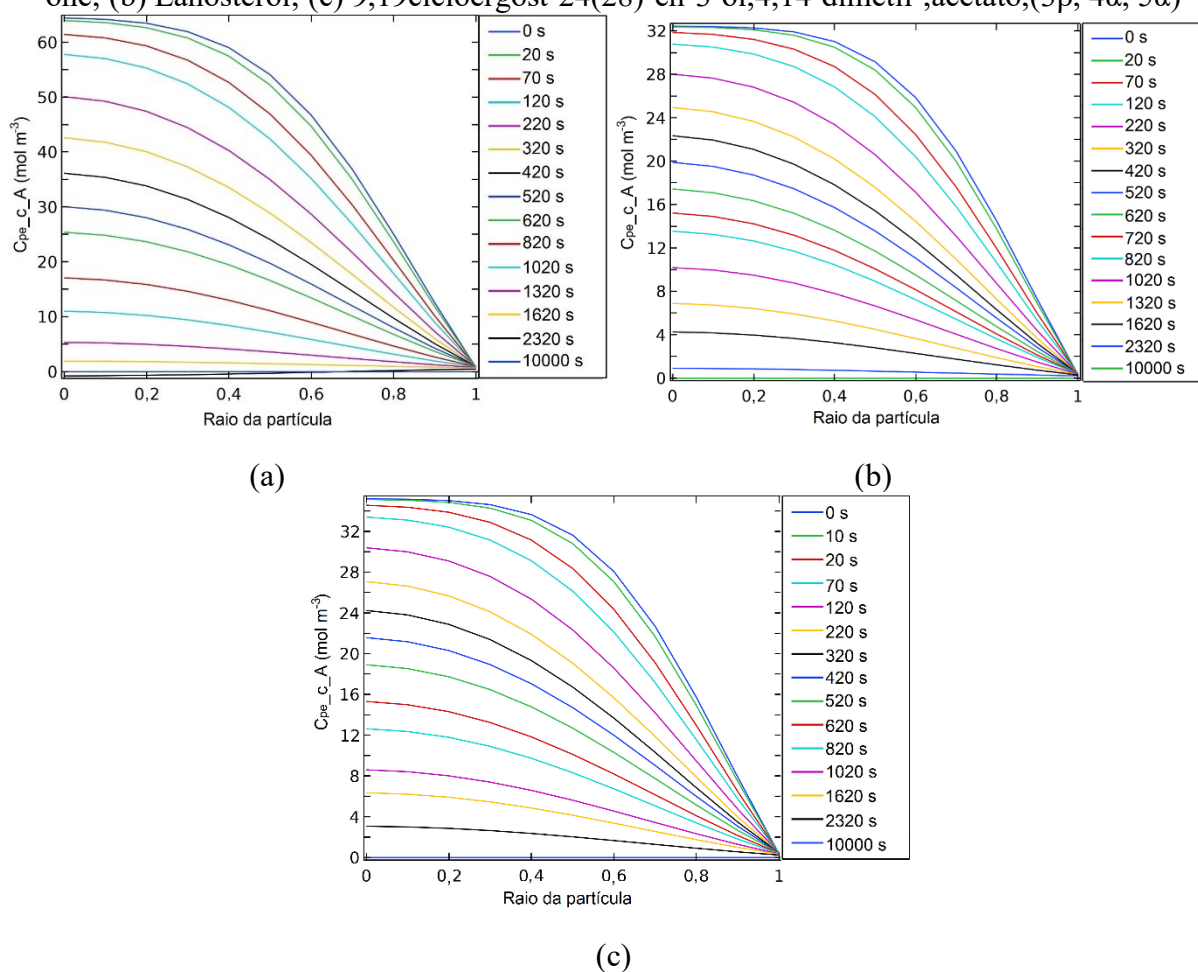
Figura 26 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



Fonte: Autora

A Figura 26 representa a redução da concentração no centro da partícula de 0-10000 s. Ao comparar a redução da concentração ao longo do tempo entre as condições 12 MPa /40 °C/3 mL min⁻¹ e 16 MPa/45 °C/3,5 mL min⁻¹, a extração ocorreu de forma semelhante nos dois casos, onde, os compostos haviam praticamente se esgotado com 4000 s. Até 1700 s, aproximadamente, a transferência de massa é governada pela convecção. De 1700-4000 s há a combinação de convecção e difusão do soluto no interior da partícula, e por fim, somente a difusão atua, caracterizando-se como um processo lento (Da SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016).

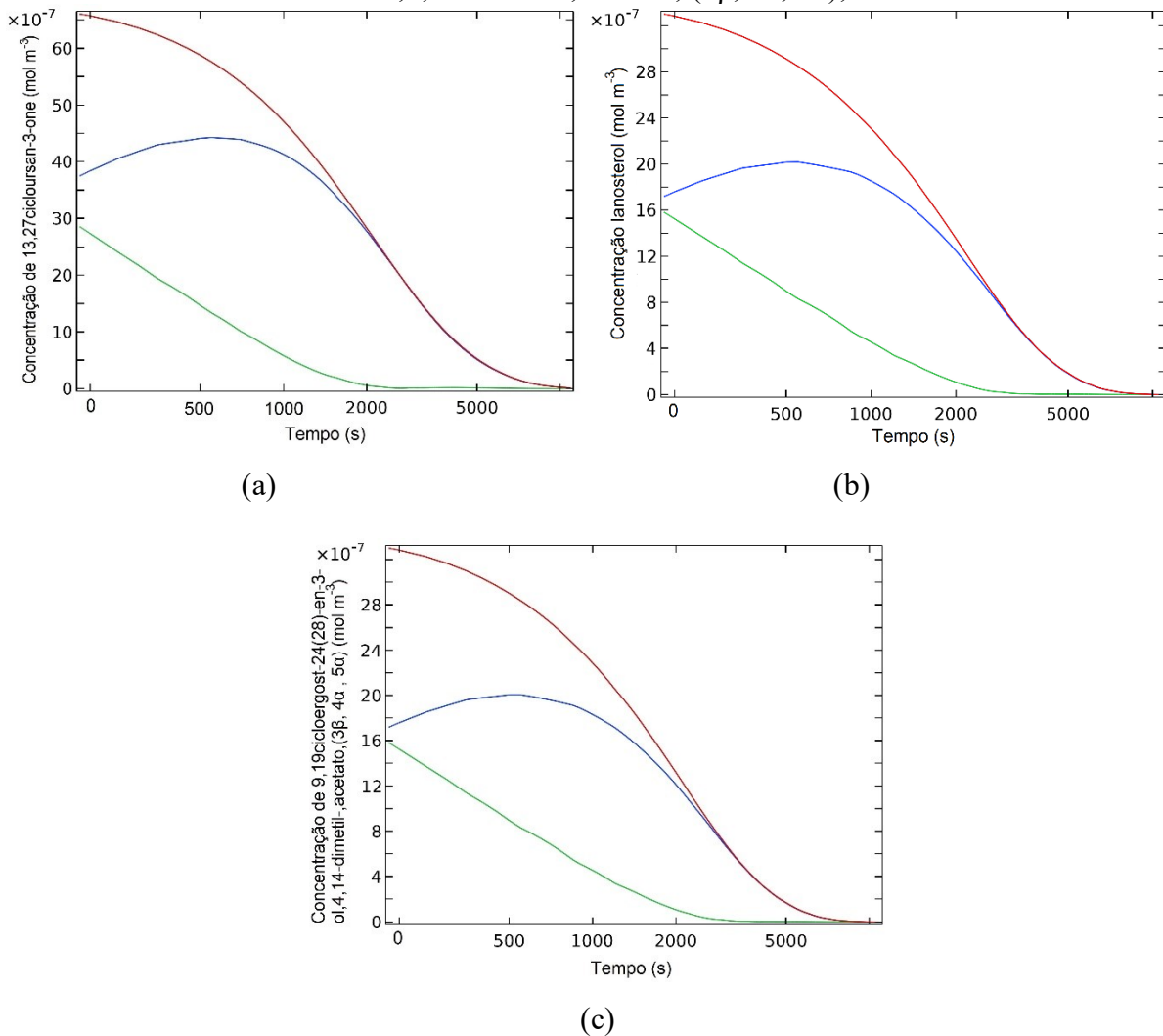
Figura 27 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo no interior da coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



Fonte: Autora

Na Figura 27, no eixo das abcissas, o raio igual 1 corresponde à superfície da partícula, enquanto que o raio igual 0 ao centro da partícula. Considerou-se que a resistência externa é muito baixa e não foi considerado efeitos de adsorção entre soluto/matriz vegetal (SOVOVÁ, 2005). O acompanhamento dos perfis no interior da partícula e da coluna indicam como os processos estão relacionados (Figura 28).

Figura 28 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α);



Legenda: Linha verde – concentração do componente na partícula; Linha azul – concentração do componente na fase fluida; Linha vermelha - soma das concentrações do componente na fase fluida e na partícula.

Fonte: Autora

Assim como na condição anterior, o perfil de concentração na fase fluida aumentou até alcançar um valor máximo e começou a se esgotar, enquanto a partícula tinha sua concentração reduzida ao longo do tempo, indicando a saída dos compostos da coluna. Os parâmetros de transferência de massa são indispensáveis para avaliar como ocorre este processo (Tabela 23).

Tabela 23 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa

Compostos	Df,c_A m ² s ⁻¹	Df,c_CO ₂ m ² s ⁻¹	hDc_A m s ⁻¹	hDc_CO ₂ m s ⁻¹	Dpe,C_A m ² s ⁻¹	Dpe,c_CO ₂ m ² s ⁻¹
13,27cicloursan-3-one	4,66E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,30E-11	3,10E-10
Lanosterol	4,63E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,00E-11	2,94E-10
9,19cicloergost-24(28)- en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3β, 4α, 5α)	4,66E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,30E-11	2,94E-10

Fonte: Autora

Para a obtenção dos parâmetros de transferência de massa e uniformização dos resultados obtidos, alguns dos parâmetros foram fixados (Df,c_CO₂, hDc_CO₂ e Dpe,c_CO₂), por tratar-se do mesmo componente e das mesmas condições de temperatura e pressão. Os valores hDc_A e Dpe,c_A foram ajustados aos dados experimentais. Os valores obtidos para estes parâmetros são semelhantes entre si, assim como os compostos de interesse. O parâmetro hDc_A regula a resistência externa a transferência de massa, considerou-se como um valor muito baixo, e que tudo o que saiu da partícula foi solubilizado e imediatamente arrastado para a fase fluida, enquanto Dpe,c_A regula a resistência interna à transferência de massa e controla a velocidade de extração dos compostos até seu esgotamento.

Assim como nos demais casos, não houve a presença de gradientes de concentração na direção radial da coluna, este padrão de transferência é chamado de *plug flow* (DEL VALLE, 2015; SOVOVÁ, 2005).

4.5.1.3 Modelagem da condição operacional de 20 MPa/50 °C/4,0 mL min⁻¹

Para a simulação, foram consideradas as condições operacionais e as propriedades do fluido (Tabela 24).

Tabela 24 - Condições operacionais e do fluido

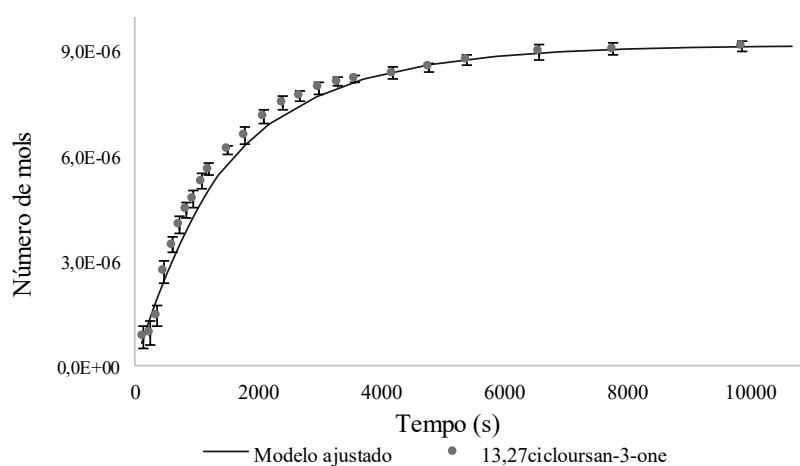
P MPa	T °C	ρ _{CO₂} kg m ⁻³	μ _{CO₂} Pa s	Q _{mCO₂L} kg s ⁻¹	Q _{vCO₂L} m ³ s ⁻¹	v m s ⁻¹
20	50,0	784,3	7,83E-05	6,68E-05	8,52E-08	1,08E-03

Fonte: Autora

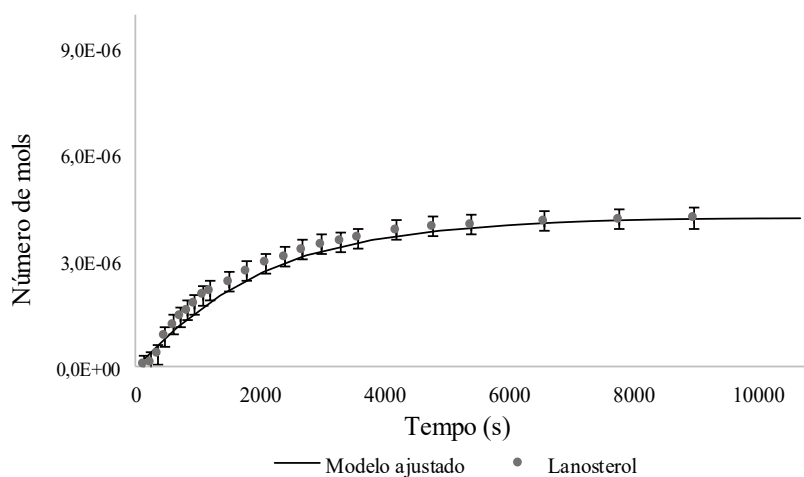
Para esta condição de extração, quando comparada com a anterior, ocorreu redução na extração de lanosterol e 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3β, 4α, 5α),

enquanto 13,27cicloursan-3-one apresentou aumento considerável em sua proporção mássica de extração (Figura 29). Este resultado está relacionado com as condições de extração e a relação entre a pressão de vapor do soluto e a solubilidade dos compostos nas condições estabelecidas (CADENA-CARRERA et al., 2019; MAZZUTTI et al., 2017).

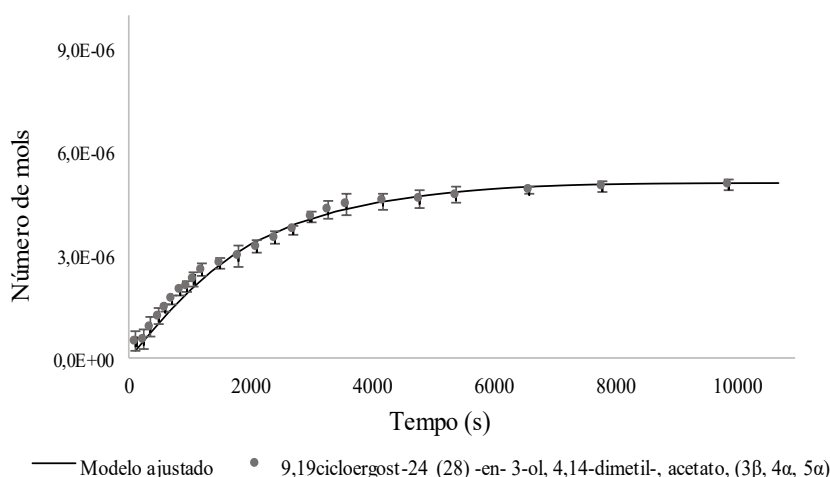
Figura 29 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3β , 4α , 5α)



(a)



(b)

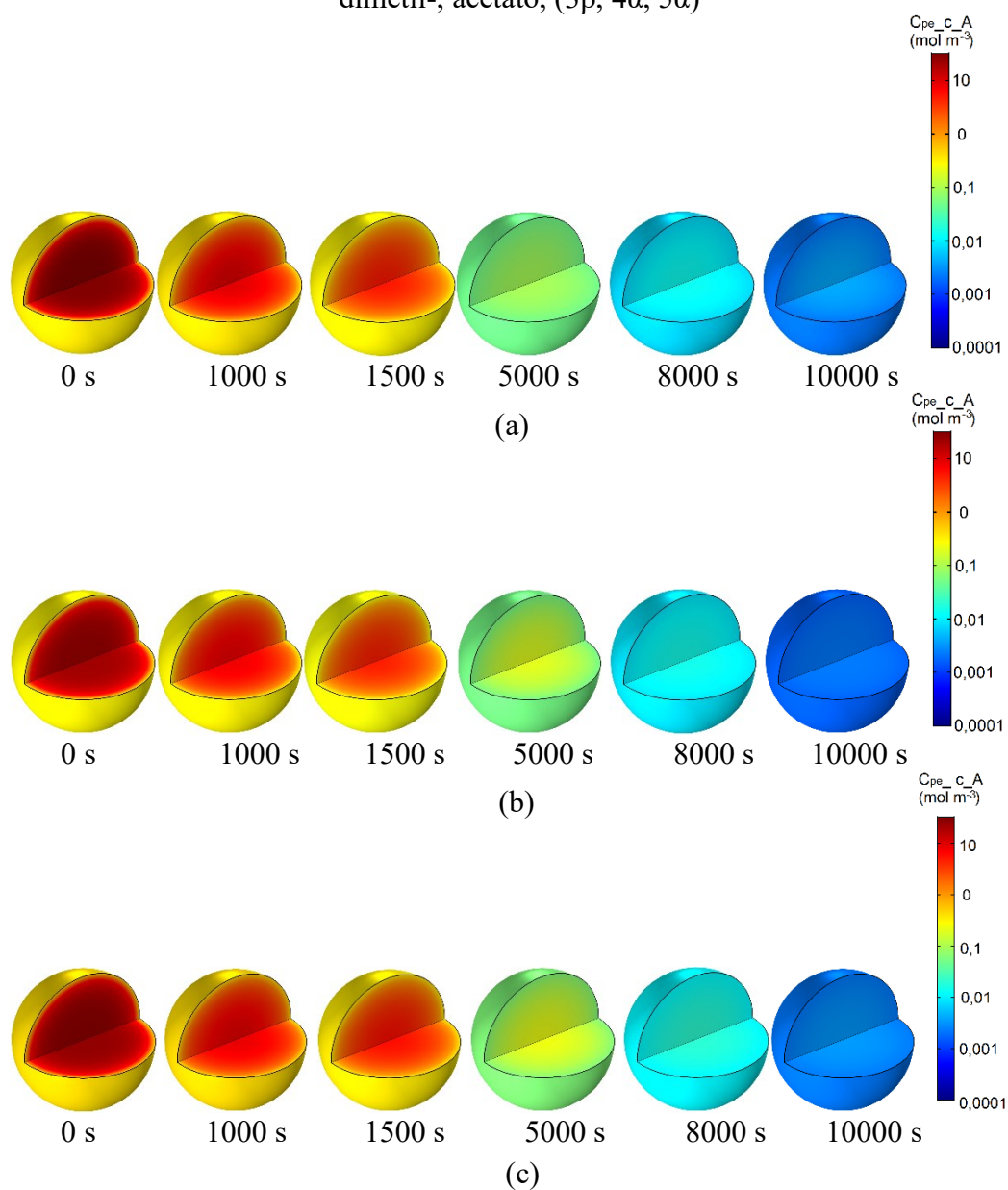


(c)

O modelo matemático apresentou as fases da extração bem definidas para as condições estabelecidas. Analisando as curvas conforme descrito por (Da SILVA; ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2016), a fase linear, onde a maior quantidade de extrato é obtida, está entre 0-1500 s e a convecção atua de maneira dominante no processo. Na segunda fase, ocorre a redução da taxa de extração, onde há um efeito combinado de convecção e difusão, este período está entre 1500-2500 s. E por fim, a difusão atua com o mecanismo dominante, no período de 2500-10000 s.

Para estas condições de extração, não houve mudança de comportamento dos pontos experimentais da curva dinâmica de extração, apenas os dois primeiros pontos aparecem como “paralelos”. Este comportamento está relacionado a condição em que apresenta maior densidade associada ao solvente e, portanto, maior poder de solvatação, pois quanto maior a densidade utilizada, maior a massa de fluido por unidade de volume, que resulta na maior interação entre soluto/solvente (REVERCHON; De MARCO, 2006). A redução da concentração ao longo do tempo (Figura 30 e Figura 31) deve ser avaliada para o melhor entendimento da extração.

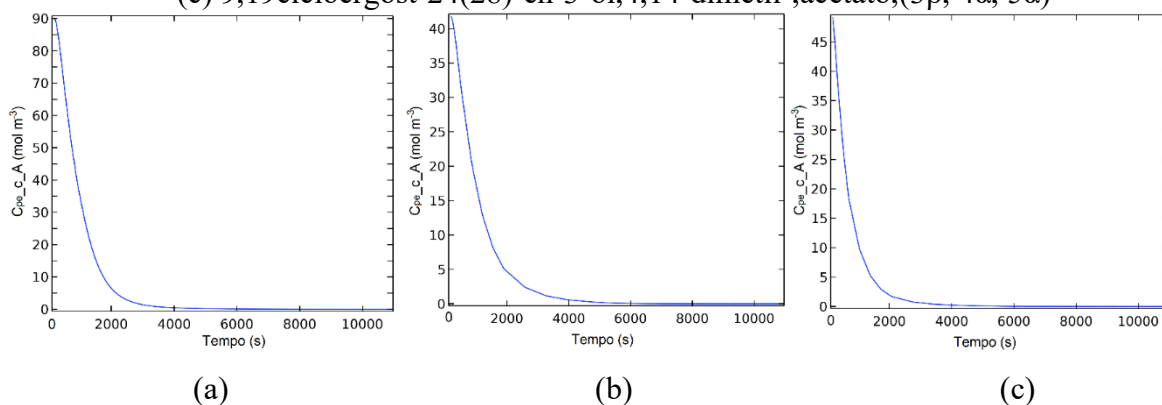
Figura 30 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)



Fonte: Autora

Deve-se levar em conta que o tempo de 0 s, nas figuras é contado a partir do início do escoamento de CO₂, ou seja, a fase estática não foi considerada e que os resultados apresentados são para uma partícula considerando a posição de $z = 0,1$ m e $r = 0,0$ m. Pela representação gráfica da legenda, observa-se que o composto 13,27cicloursan-3-one parte de um valor de concentração inicial mais elevado que os outros componentes, mas que sua redução está seguindo a mesma sequência dos outros compostos estudados.

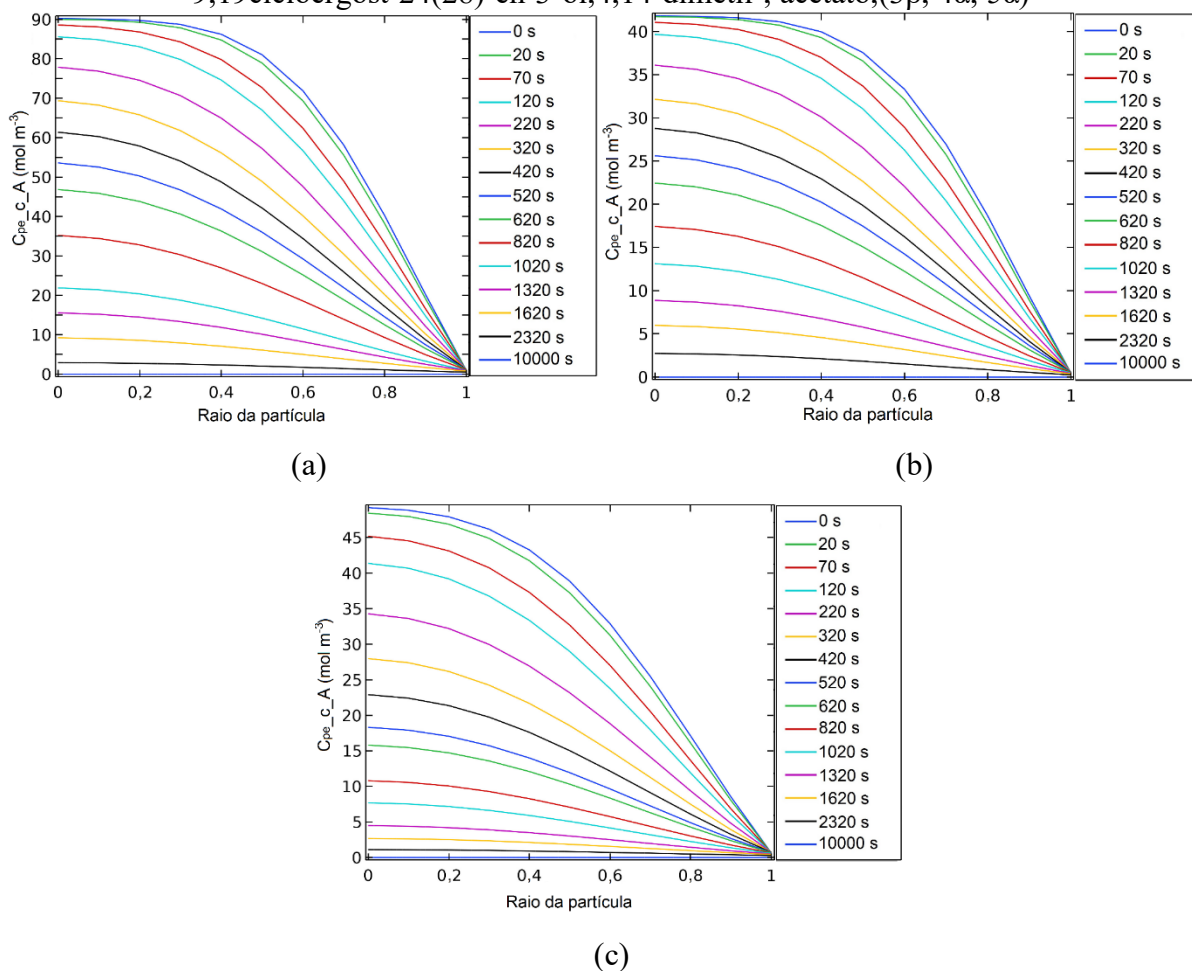
Figura 31 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo no interior da coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



Fonte: Autora

A Figura 31 trata da redução da concentração no centro da partícula de 0-10000 s. Os compostos lanosterol e 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato, (3 β , 4 α , 5 α) apresentaram concentração inicial semelhante e ocorreu redução significativa da concentração da partícula até 4000 s. Para o melhor entendimento, deve-se avaliar a relação entre a redução da concentração dos compostos ao longo da partícula em função do tempo (Figura 32).

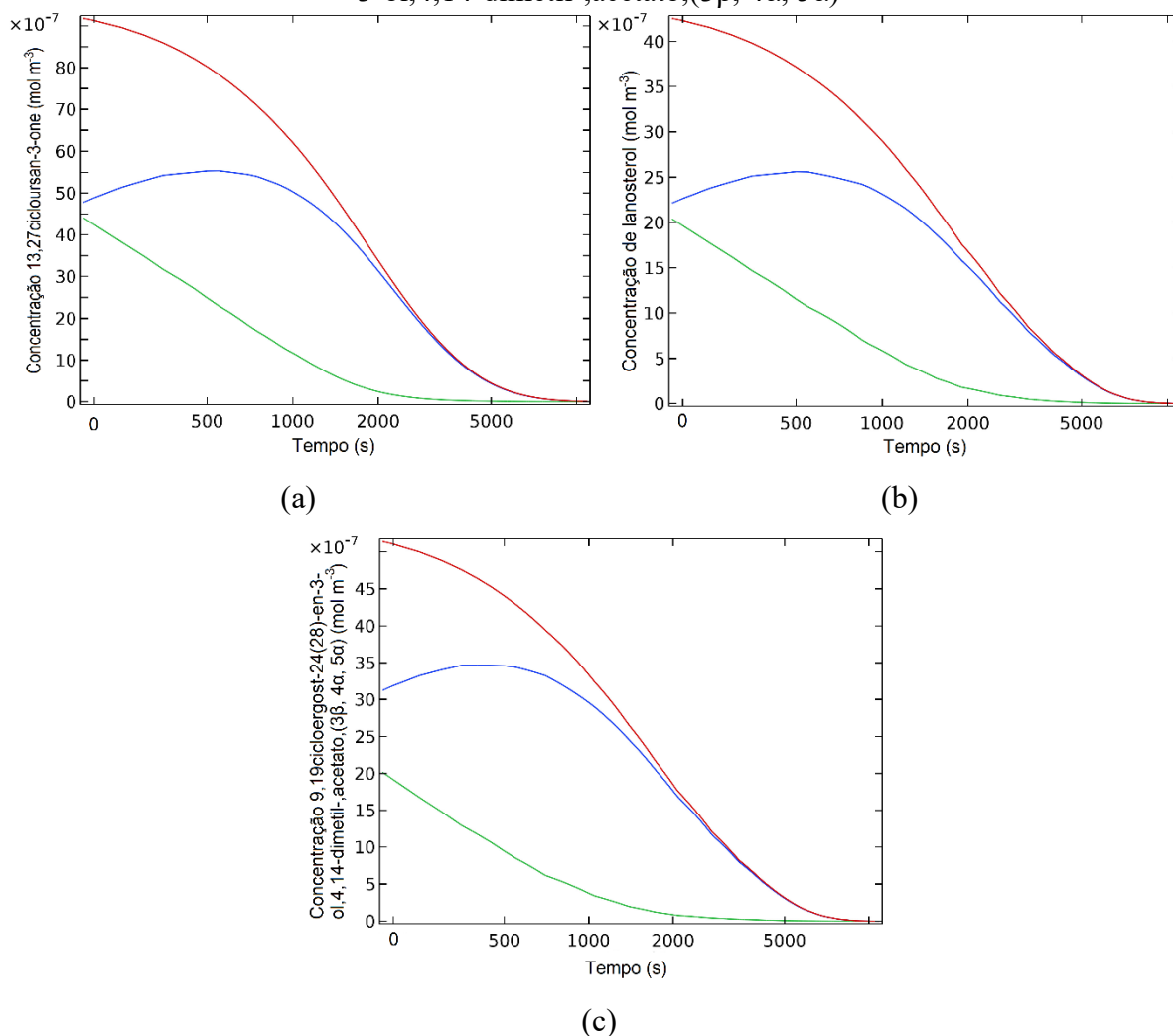
Figura 32 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



Fonte: Autora

Na Figura 32, no eixo das abscissas, raio igual 1, trata-se da parte mais externa da partícula, e raio igual 0, trata-se do centro da partícula. Como nos casos anteriores, considerou-se que a resistência externa baixa, sem levar em consideração uma relação de atração entre soluto/matriz vegetal (SOVOVÁ, 2005). O acompanhamento dos perfis no interior da partícula e da coluna indicam como os processos estão relacionados (Figura 33).

Figura 33 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



Legenda: Linha verde – concentração do componente na partícula; Linha azul – concentração do componente na fase fluida; Linha vermelha - soma das concentrações do componente na fase fluida e na partícula.

Fonte: Autora

Na Figura 33, observa-se um comportamento semelhante ao apresentado nas extrações das condições anteriores, o decaimento contínuo da concentração na partícula, enquanto ocorre um leve aumento da concentração do componente A na fase fluida, até que ocorra o seu escoamento para a saída da coluna e a concentração é reduzida. Os parâmetros de transferência de massa são indispensáveis para avaliar como ocorre este processo (Tabela 25).

Tabela 25 – Parâmetros de ajuste de transferência de massa

Compostos	Df,c_A m ² s ⁻¹	Df,c_CO ₂ m ² s ⁻¹	hDc_A m s ⁻¹	hDc_CO ₂ m s ⁻¹	Dpe,C_A m ² s ⁻¹	Dpe,c_CO ₂ m ² s ⁻¹
13,27cicloursan-3-one	4,24E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,50E-11	3,00E-10
Lanosterol	4,21E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,70E-11	3,00E-10
9,19cicloergost-24(28)- en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3β, 4α, 5α)	4,24E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,50E-11	3,00E-10

Fonte: Autora

Para a obtenção dos parâmetros de transferência de massa e uniformização dos resultados obtidos, alguns dos parâmetros foram fixados (Df,c_CO₂, hDc_CO₂ e Dpe,c_CO₂), por tratar-se do mesmo componente e das mesmas condições de temperatura e pressão. Os valores hDc_A e Dpe,c_A foram ajustados aos dados experimentais. Os valores obtidos para estes parâmetros são semelhantes entre si, assim como os compostos de interesse. O parâmetro hDc_A regula a resistência externa a transferência de massa, considerou-se como um valor muito baixo, e que tudo o que saiu da partícula foi solubilizado e imediatamente arrastado para a fase fluida, enquanto Dpe,c_A regula a resistência interna à transferência de massa e controla a velocidade de extração dos compostos até seu esgotamento.

Dentre todas as condições testadas, esta última parece ser a melhor opção de extração se o objetivo for a obtenção de qualquer um destes compostos, pois foi obtido maior número de mols em menor quantidade de tempo, atingindo conforme a literatura entre 50-90 % da quantidade total de extrato (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

4.5.2 Modelagem matemática para partículas S2

Os resultados desta seção serão apresentados por condição de extração. A simulação considerando compostos individuais facilita estimar os parâmetros de ajuste do modelo frente a uma mistura de compostos pouco definida.

4.5.2.1 Modelagem da condição operacional de 12 MPa/40 °C/3,0 mL min⁻¹

Para a simulação, foram consideradas as condições operacionais e as propriedades do fluido (Tabela 26) de acordo com a temperatura e pressão empregadas.

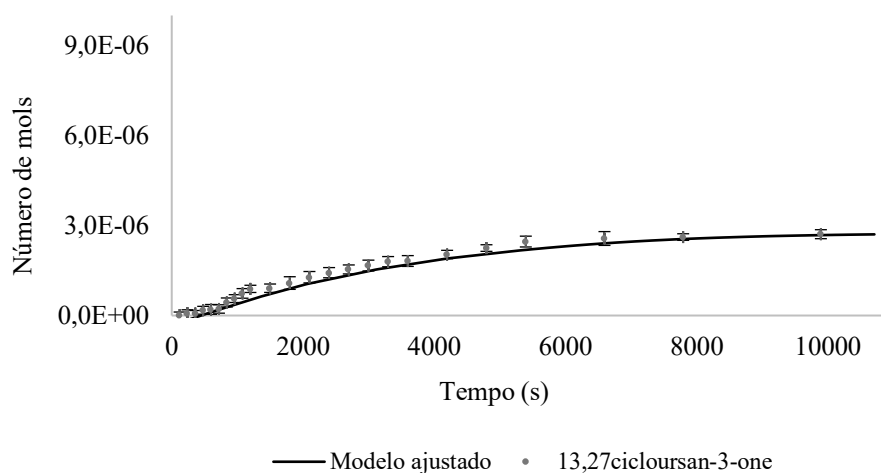
Tabela 26 - Condições operacionais e do fluido

P	T	ρ_{CO_2}	μ_{CO_2}	$Q_{m_{CO_2L}}$	$Q_{v_{CO_2L}}$	v
MPa	°C	kg m⁻³	Pa s	kg s⁻¹	m³ s⁻¹	m s⁻¹
12	40,0	717,8	5,85E-05	5,01E-05	6,98E-08	8,89E-04

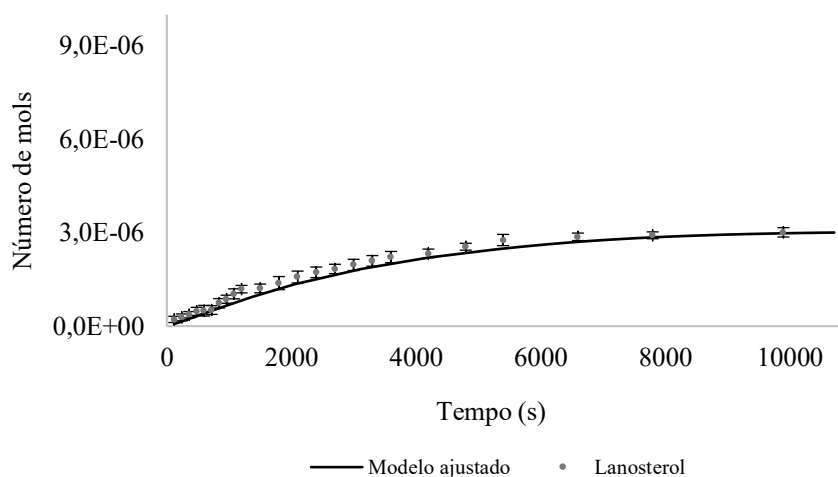
Fonte: Autora

A apresentação do modelo ajustado aos dados experimentais foi elaborada em função do tempo e do número de mols de cada componente em questão (Figura 34).

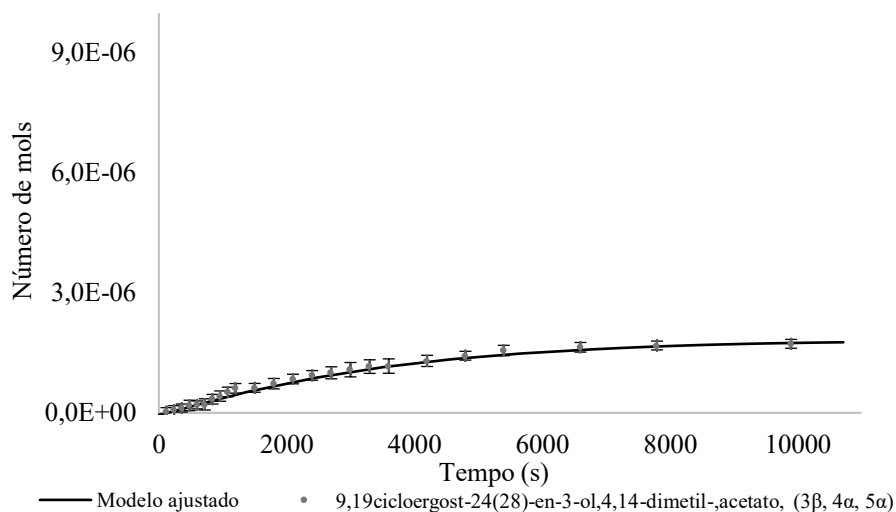
Figura 34 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α)



(a)



(b)



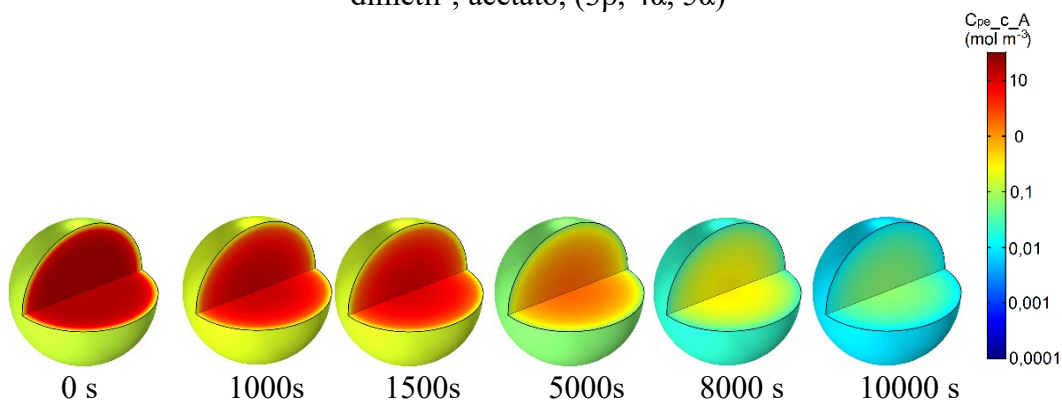
(c)

Fonte: Autora

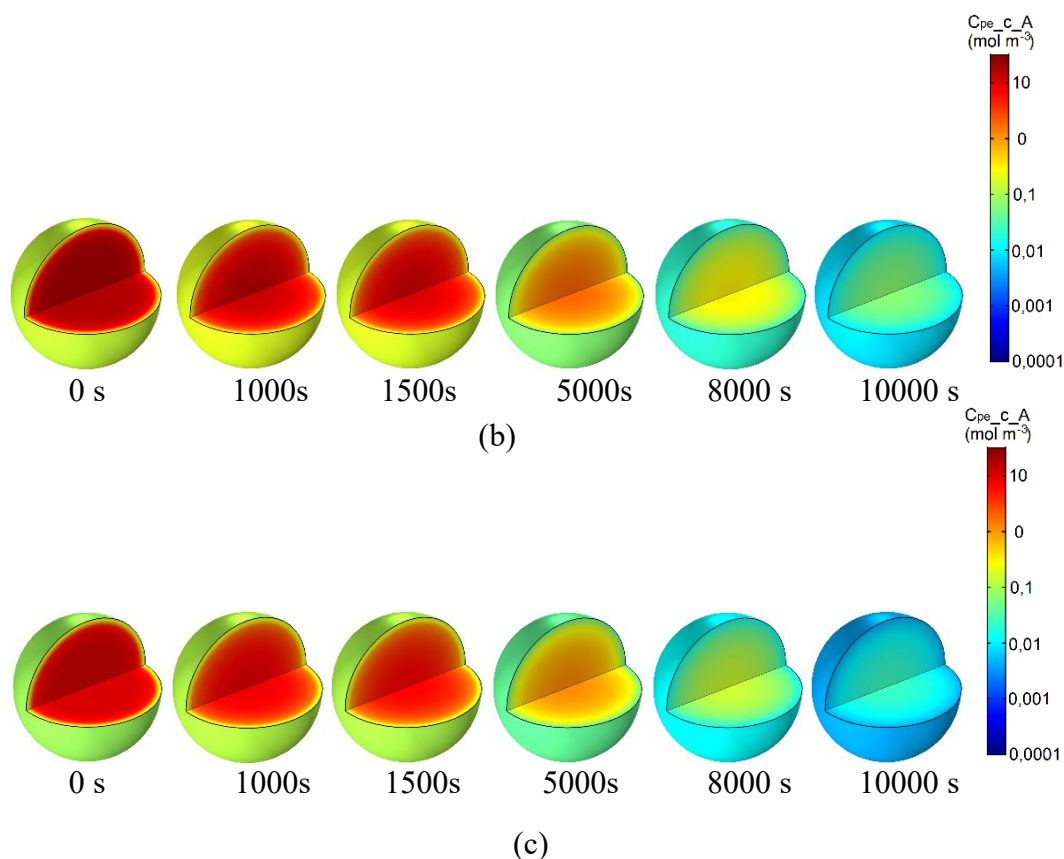
Para este tamanho de partícula, o composto 13,27cicloursan-3-one apresentou número de mols semelhante ao lanosterol. A etapa inicial lenta para os pontos experimentais de extração não foi tão aparente, mas até 1000 s pouco extrato foi coletado. Neste caso, as etapas da extração não ficaram bem definidas, uma vez que não apresentou uma etapa de taxa de extração constante. A convecção apresenta baixa influência no processo, de forma que a difusão torna-se o mecanismo dominante, durante todo o processo. Assim, obtém-se uma curva que apresenta baixas taxas de extração por um período maior de tempo.

O modelo matemático permitiu descrever o fenômeno da extração por difusão no interior de uma partícula unitária, acompanhando o seu desenvolvimento ao longo do tempo, para qualquer posição dentro da coluna (Figura 35).

Figura 35 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3β, 4α, 5α)



(a)

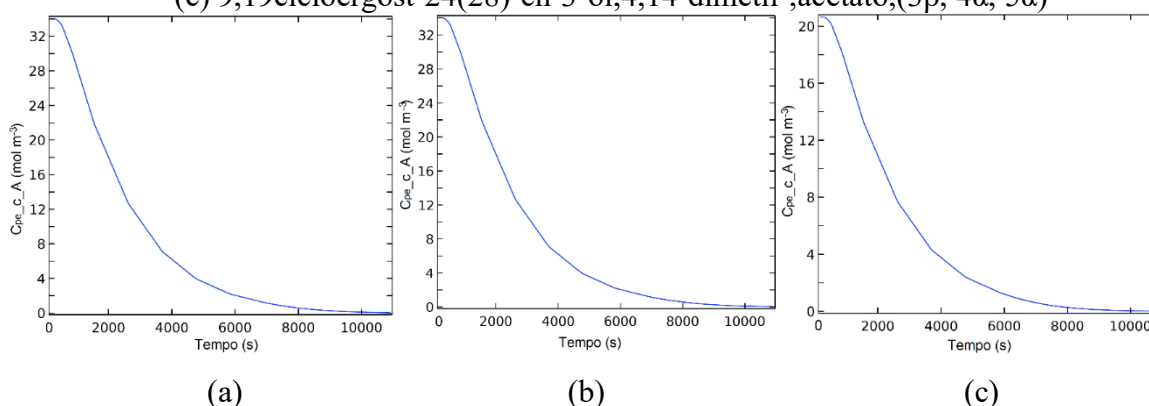


Fonte: Autora

Deve-se levar em conta que o tempo de 0 s na Figura 35 é contado a partir do início do escoamento de CO_2 , ou seja, a fase estática não foi considerada e que os resultados apresentados correspondem a valores médios na coluna para uma partícula qualquer em seu interior. A estimativa da concentração das partículas ao longo do raio é resultante do valor médio de concentração entre a condição externa vizinha da superfície da partícula e o valor da concentração em seu interior, o que causa esta aparência de “casca”, nas partículas referente aos tempos 0, 1000, 1500 e 5000 s. Devido à menor concentração inicial das partículas com menor diâmetro, existe uma diferença na coloração inicial da representação inicial das partículas.

Os compostos em questão têm estruturas similares, pois apresentam moléculas de cadeias longas e por isso os parâmetros estimados são semelhantes. Para melhor perceber a redução da concentração dos compostos no interior da partícula, faz-se necessário avaliar cada caso (Figura 36 e Figura 37).

Figura 36 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo no interior da coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)

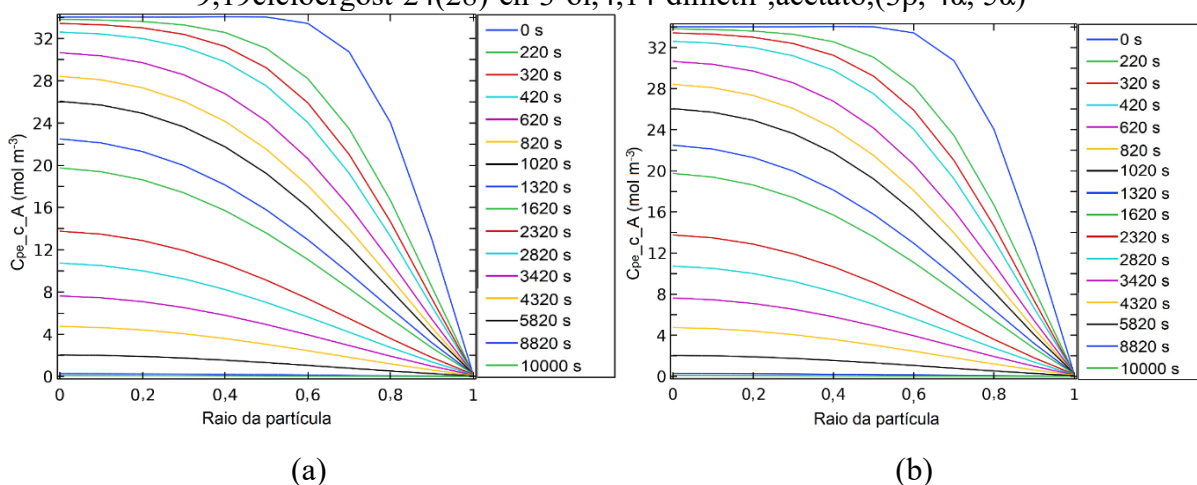


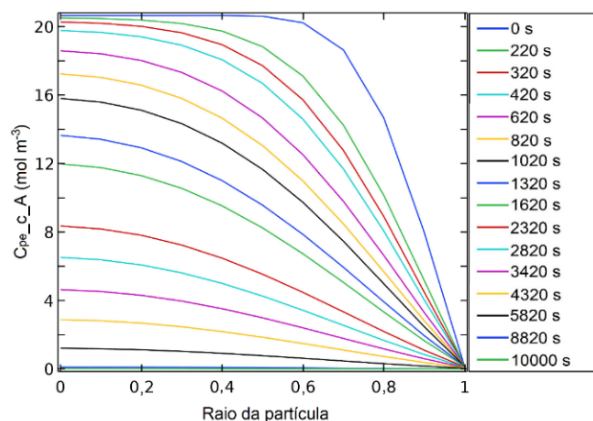
Fonte: Autora

A Figura 36 representa a redução da concentração no centro da partícula de 0 a 10000 s. Neste caso, a transferência de massa acontece de uma forma lenta e contínua, onde o número de mols tende a zero apenas após 8000 s.

Observando a Figura 21 e Figura 36, as partículas S1 tiveram seu conteúdo quase todo extraído em menor período de extração, enquanto, as partículas de maior diâmetro precisaram de mais tempo para que seu conteúdo fosse esgotado. Isto se deve ao fato que o mecanismo de transferência de massa que controla o processo de extração é a difusão interna e nesse caso o tamanho de partícula e sua distribuição apresentam influência significativa (REVERCHON, 1997).

Figura 37 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer ao longo do raio em função do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



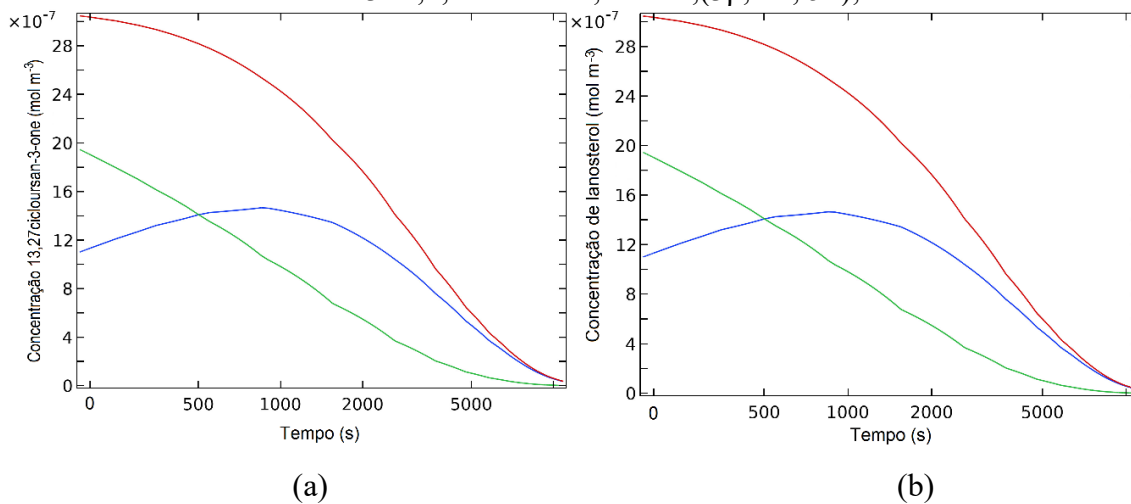


(c)

Fonte: Autora

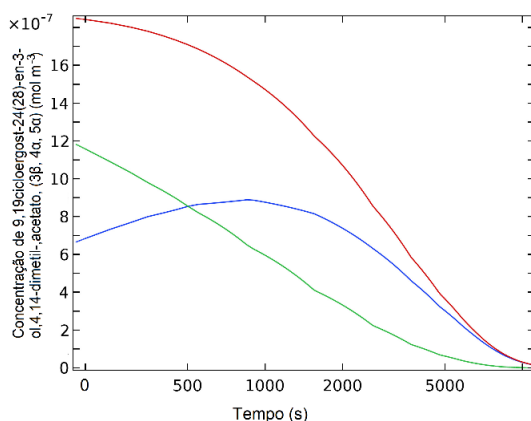
A Figura 37 indica o perfil de concentração no interior da partícula ao longo do tempo e evidencia como ocorre o processo de extração, e como a resistência interna atua de maneira mais direta e dificulta a redução da concentração em função do tempo ao longo do raio da partícula. O acompanhamento dos perfis no interior da partícula e da coluna indicam como os processos estão relacionados (Figura 38).

Figura 38 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil,acetato,(3 β , 4 α , 5 α);



(a)

(b)



(c)

Legenda: Linha verde – concentração do componente na partícula; Linha azul – concentração do componente na fase fluida; Linha vermelha - soma das concentrações do componente na fase fluida e na partícula.

Fonte: Autora

Inicialmente, a concentração no líquido não é igual a zero e a concentração no interior da partícula também não é a concentração inicial fornecida ao programa, isto ocorre pois o t_0 representado no gráfico acontece após a extração estática que é de 180 s, portanto, parte da massa da partícula foi transferida para a fase fluida. Após t_0 , a concentração dos compostos na partícula é sempre maior que no líquido, indicando que a transferência de massa acontece lentamente e de forma contínua, no entanto, pode-se perceber que a concentração no líquido aumenta, até que chega em seu máximo e começa a reduzir, indicando a saída destes compostos da coluna. Os parâmetros de transferência de massa são indispensáveis para avaliar como ocorre este processo (Tabela 27).

Tabela 27 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa

Compostos	Df,c_A $m^2 s^{-1}$	Df,c_{CO_2} $m^2 s^{-1}$	hDc_A $m s^{-1}$	hDc_{CO_2} $m s^{-1}$	Dpe,c_A $m^2 s^{-1}$	Dpe,c_{CO_2} $m^2 s^{-1}$
13,27cicloursan-3-one	5,50E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,00E-11	3,00E-10
Lanosterol	5,46E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	1,98E-11	3,00E-10
9,19ciclogost-24(28)- en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3β, 4α, 5α)	5,32E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	1,93E-11	3,00E-10

Fonte: Autora

4.5.2.2 Modelagem da condição operacional de 20 MPa/50 °C/4,0 mL min⁻¹

Para a simulação, foram consideradas as condições operacionais e as propriedades do fluido (Tabela 28).

Tabela 28 - Condições operacionais e do fluido

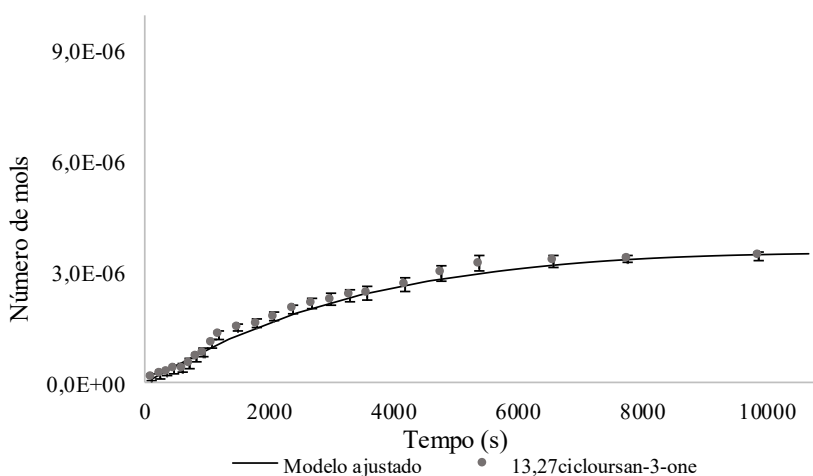
P MPa	T °C	ρ_{CO_2} kg m⁻³	μ_{CO_2} Pa s	$Q_{\text{mCO}_2\text{L}}$ kg s⁻¹	$Q_{\text{VCO}_2\text{L}}$ m³ s⁻¹	v m s⁻¹
20	50,0	784,3	7,83E-05	6,68E-05	8,52E-08	1,08E-03

Fonte: Autora

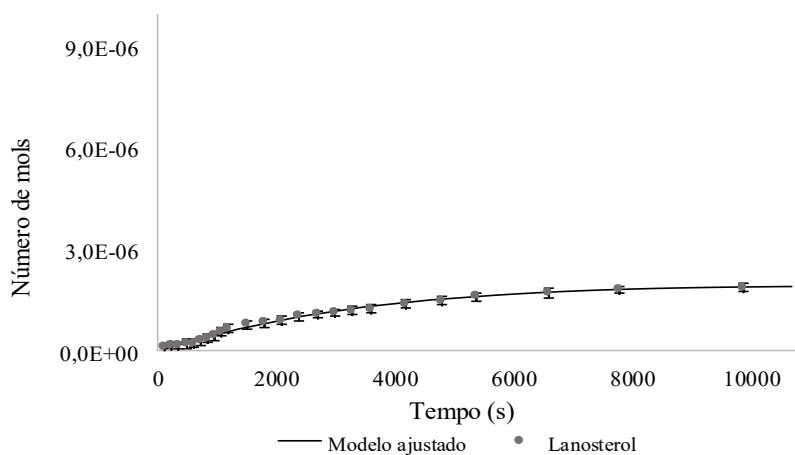
Para a extração nas condições acima citadas, o componente com maior número de mols foi o 13,27cicloursan-3-one, enquanto os compostos lanosterol e 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α), tiveram números de mols semelhantes.

A apresentação do modelo ajustado aos dados experimentais foi elaborada em função do tempo e do número de mols de cada componente em questão (Figura 39).

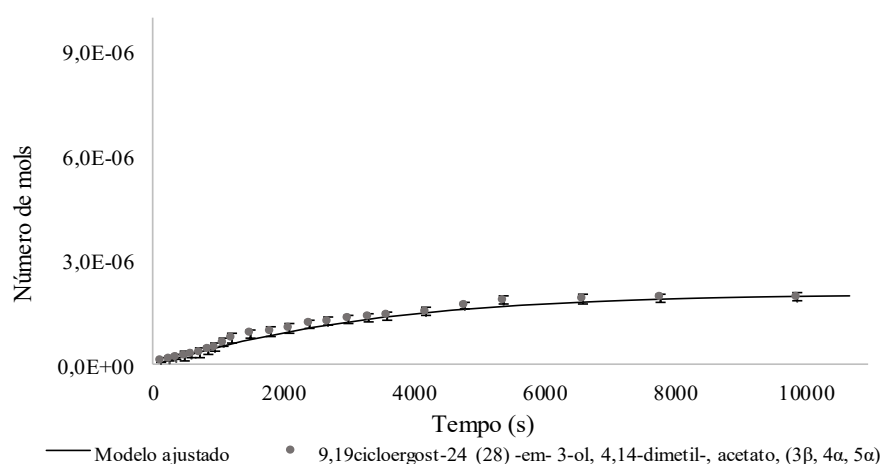
Figura 39 - Evolução do número de mols acumulados extraídos: experimental vs modelo matemático. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3 β , 4 α , 5 α);



(a)



(b)



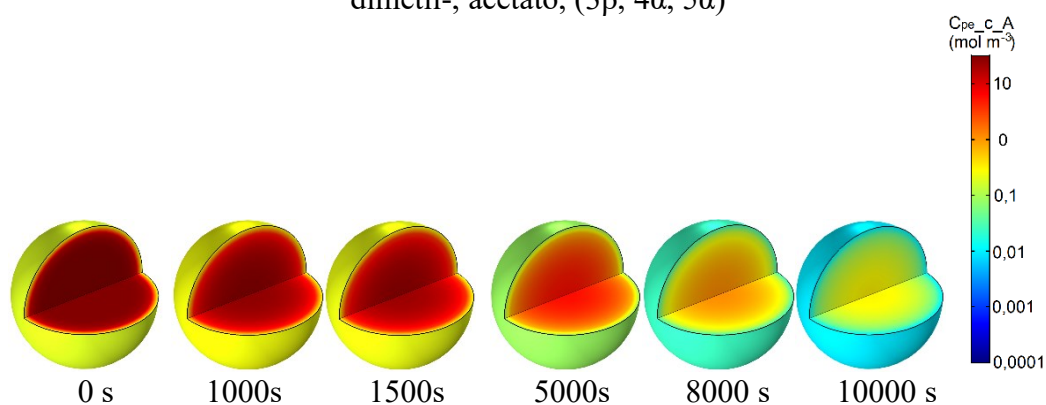
(c)

Fonte: Autora

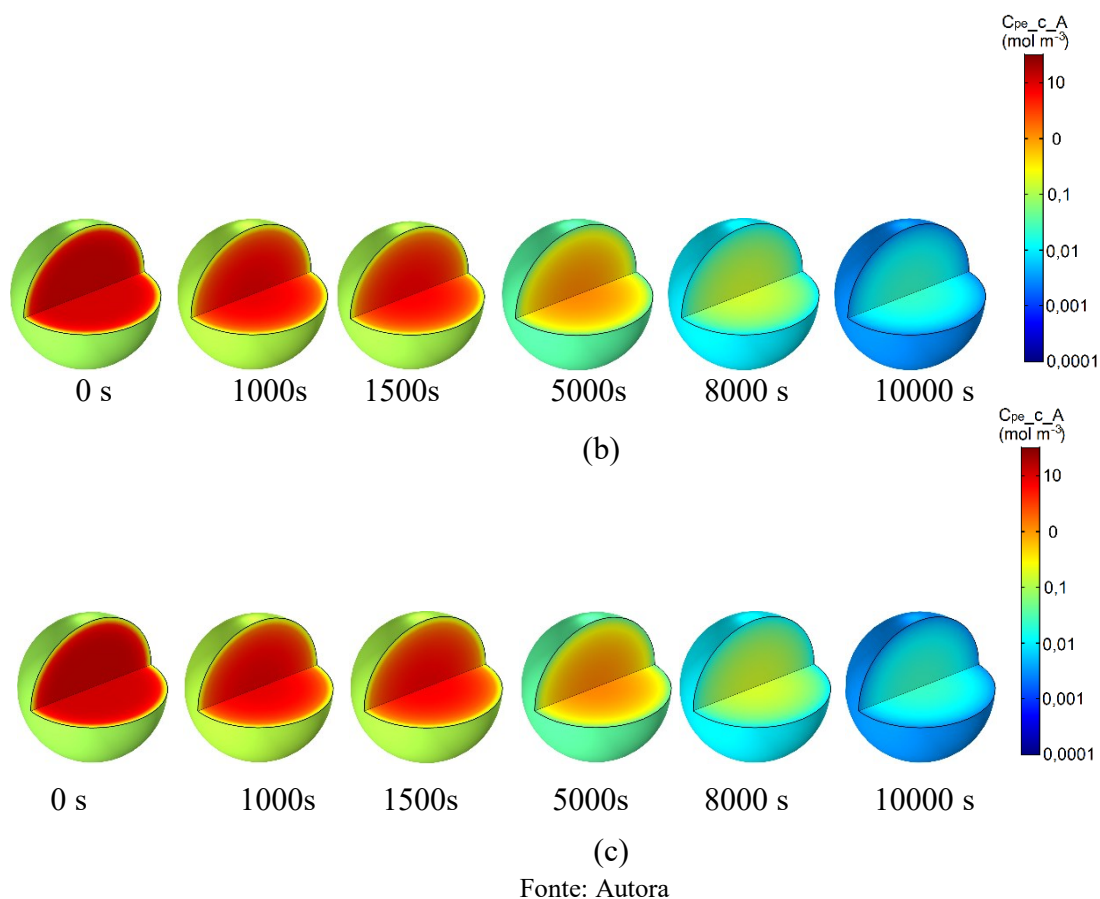
A mudança de comportamento da curva de extração nos pontos experimentais iniciais não foi tão aparente e pouco extrato foi coletado até 1000 s. As etapas da extração não foram bem definidas, uma vez que não apresentou uma etapa inicial de taxa constante de extração, neste caso, a convecção apresenta baixa influência no processo.

O modelo matemático permite descrever o fenômeno da extração por difusão no interior de uma partícula unitária, acompanhando o seu desenvolvimento ao longo do tempo, para qualquer posição dentro da coluna (Figura 40).

Figura 40 - Redução da concentração média dos compostos em uma partícula qualquer na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato, (3β, 4α, 5α)

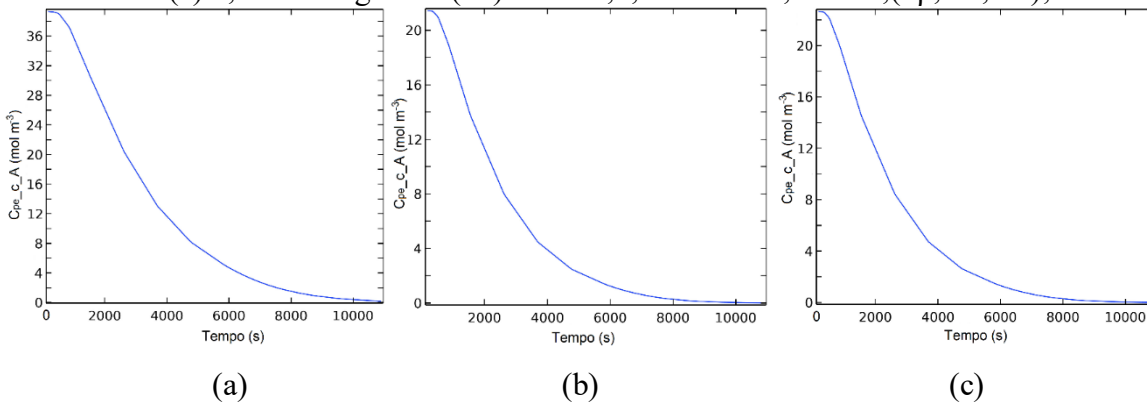


(a)



O tempo de 0 s na Figura 40 é contado a partir do início do escoamento de CO_2 , ou seja, a fase estática não foi considerada. A coloração das partículas trata-se de uma estimativa que é resultante do valor médio de concentração entre a condição externa vizinha da superfície da partícula e o valor da concentração em seu interior. Os resultados apresentados correspondem a valores médios na coluna para uma partícula qualquer em seu interior. Para melhor perceber a redução da concentração dos compostos no interior da partícula, faz-se necessário avaliar cada caso (Figura 41 e Figura 42).

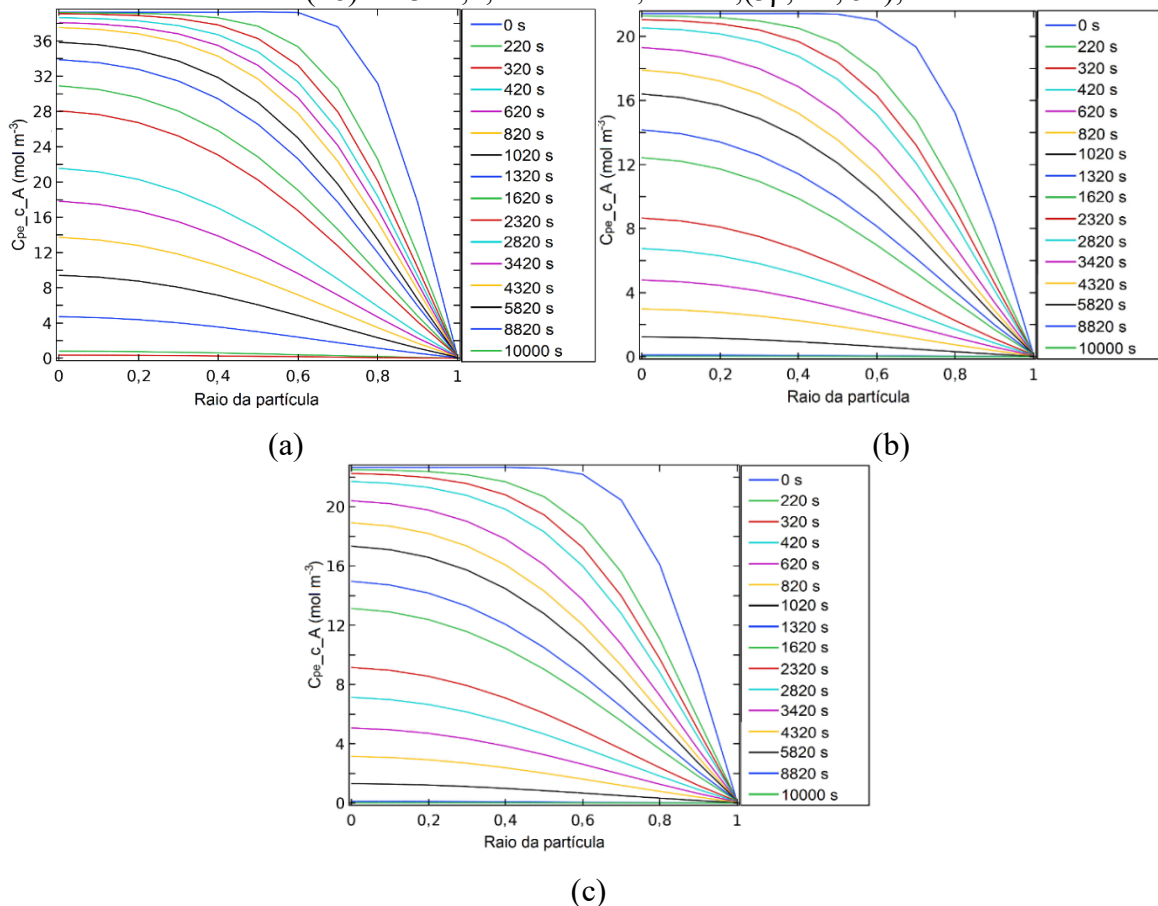
Figura 41 - Redução da concentração média dos compostos no centro de uma partícula qualquer ao longo do tempo no interior da coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α);



Fonte: Autora

A Figura 41 mostra a redução da concentração no centro da partícula de 0 a 10000 s. A transferência de massa acontece de uma forma lenta e contínua, onde o número de mols tende a zero apenas após 8000 s.

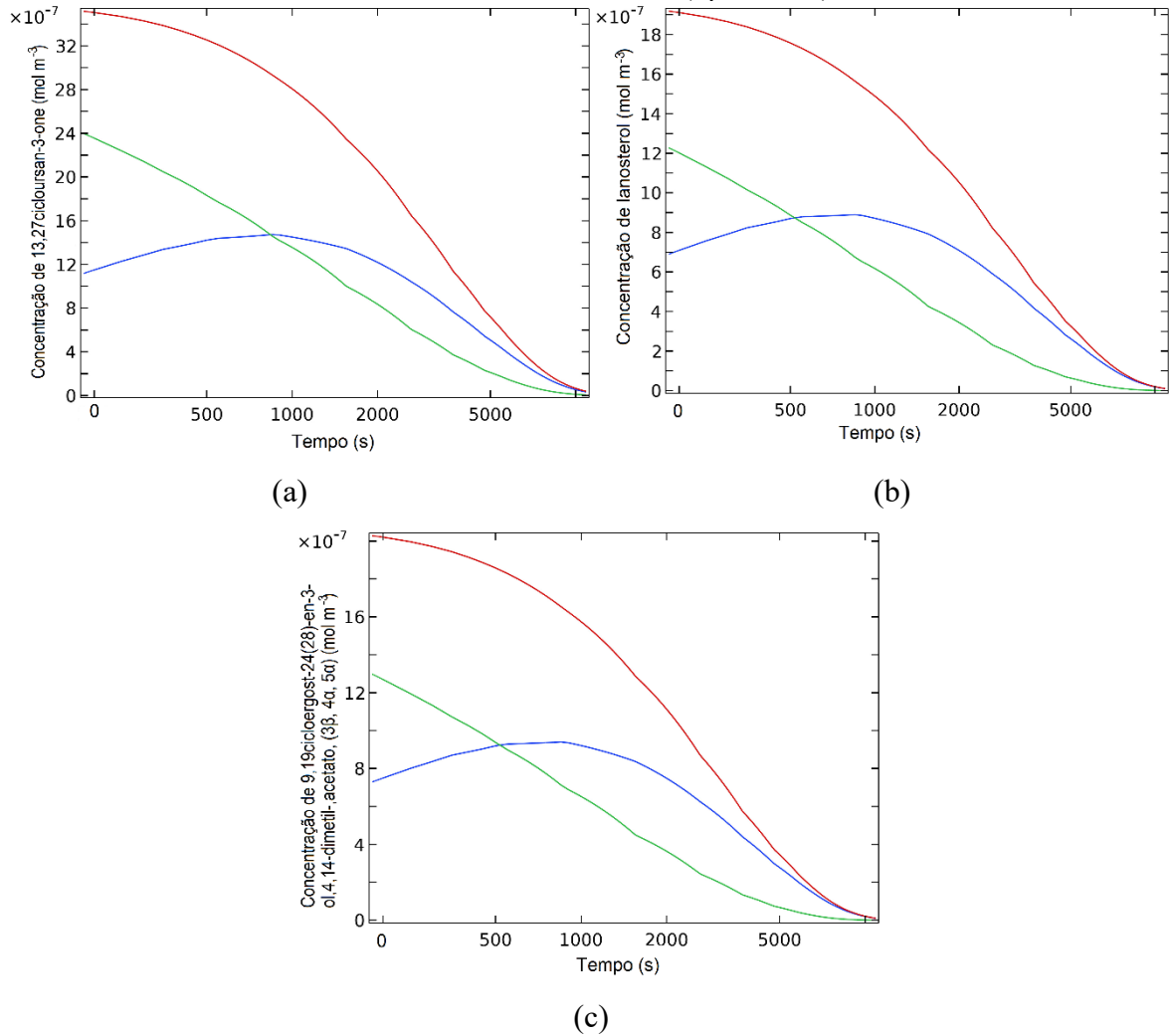
Figura 42 - Redução da concentração média dos compostos no interior de uma partícula qualquer em função do tempo. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α);



Fonte: Autora

A resistência interna atua de maneira mais direta dificultando a redução da concentração em função do tempo ao longo do raio da partícula. O acompanhamento dos perfis no interior da partícula e da coluna indicam como os processos de transferência de massa estão relacionados (Figura 43).

Figura 43 - Perfis de concentração média dos compostos ao longo do tempo em uma partícula qualquer e na coluna. (a) 13,27cicloursan-3-one; (b) Lanosterol; (c) 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol,4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α)



Legenda: Linha verde – concentração do componente na partícula; Linha azul – concentração do componente na fase fluida; Linha vermelha - soma das concentrações do componente na fase fluida e na partícula.

Fonte: Autora

Como no caso anterior, os valores gráficos se iniciam somente após o período de extração estática. Após o t_0 , a concentração dos compostos na partícula é sempre maior que no líquido, indicando que a transferência de massa acontece lentamente. A concentração na fase

líquida aumenta, até que chega em seu máximo e começa a se esgotar. Os parâmetros de transferência de massa ajudam a compreender como ocorre este processo (Tabela 29).

Tabela 29 - Parâmetros de ajuste de transferência de massa

Compostos	Df,c_A m ² s ⁻¹	Df,c_CO ₂ m ² s ⁻¹	hDc_A m s ⁻¹	hDc_CO ₂ m s ⁻¹	Dpe,C_A m ² s ⁻¹	Dpe,c_CO ₂ m ² s ⁻¹
13,27cicloursan-3-one	4,24E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,50E-11	3,00E-10
Lanosterol	4,21E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,70E-11	3,00E-10
9,19cicloergost-24(28)- en-3-ol,4,14-dimetil-, acetato,(3β, 4α, 5α)	4,24E-09	5,00E-09	1,00E-04	1,00E-10	2,50E-11	3,00E-10

Fonte: Autora

Para a obtenção dos parâmetros de transferência de massa e uniformização dos resultados obtidos, alguns dos parâmetros foram fixados (Df,c_CO₂, hDc_CO₂ e D_{pe,c_CO₂}), por tratar-se do mesmo componente e das mesmas condições de temperatura e pressão. Os valores hDc_A e D_{pe,c_A} foram ajustados aos dados experimentais. O parâmetro hDc_A regula a resistência externa a transferência de massa, considerou-se como um valor muito baixo, e que tudo o que saiu da partícula foi solubilizado e imediatamente arrastado para a fase fluida, enquanto D_{pe,c_A} regula a resistência interna à transferência de massa e controla a velocidade de extração dos compostos até seu esgotamento.

O aumento do tamanho da partícula altera as características do leite que por consequência reduz o processo de transferência de massa e retarda o processo global de extração. A redução da superfície de contato das partículas dificulta o acesso do solvente aos compartimentos oleíferos da matriz vegetal, resultando na redução de soluto livre e ocasionando uma menor taxa de extração inicial, aquela que ocorre por convecção, dessa forma, a difusão atua como mecanismo dominante de transferência de massa no processo de extração (PEREIRA; MEIRELES, 2010).

5 CONCLUSÕES

Os extratos obtidos a partir da SJ (semente de jaca) apresentaram atividade biológica diversa, dependendo da técnica de extração e/ou condições aplicadas na extração. O extrato obtido por Soxhlet/etanol (SOX-EtOH) apresentou os melhores resultados para capacidade antioxidante, rendimento global, citotoxicidade e ação anti-inflamatória, quando avaliada pela inibição da produção do NO. O extrato obtido por maceração/etanol (MAC-EtOH) apresentou resultados bons para rendimento global, capacidade antioxidante, atividade antifúngica e citotoxicidade. Os extratos obtidos por Soxhlet/hexano (SOX-HEX) e maceração/hexano (MAC-HEX) foram regulares, indicando que este não é um bom solvente para a extração de SJ.

Os extratos da extração supercrítica (ESC) apresentaram resultados positivos mais específicos, como é o caso da melhor atividade antifúngica, citotoxicidade e ação anti-inflamatória pela inibição da produção do NO. Assim, os extratos provenientes da ESC se mostraram com aplicabilidade mais restrita quando comparados aos extratos SOX-EtOH e MAC-EtOH. O etanol apresenta polaridade intermediária e é capaz de extrair maior gama de compostos com propriedades diversas; no entanto, com as limitações (longos períodos de extração, pós-processamento do extrato, elevadas temperaturas de extração) das técnicas convencionais de extração. O CO₂ apresenta caráter apolar e assim a ESC pode apresentar bons resultados para compostos afins e para aplicações mais específicas.

O planejamento experimental indicou que as variáveis de entrada que mais contribuem para a extração de triterpenos e esteróis, na técnica ESC, foram temperatura, pressão e vazão de CO₂. O perfil químico relativo indicou que os compostos com maior proporção relativa nos extratos obtidos mediante ESC foram 13,27-cicloursan-3-one, 9,19cicloergost-24(28)-en-3-ol, 4,14-dimetil-,acetato,(3 β , 4 α , 5 α) e lanosterol. A análise RSM evidenciou que as melhores condições de extração com CO₂ supercrítico para esteróis e triterpenos foram 38 °C/22 MPa e 52 °C/10 MPa, respectivamente.

A partir da modelagem matemática e da simulação numérica foi possível determinar os coeficientes de difusão, resistências interna e externa que atuam no processo de extração, além de identificar os fenômenos que foram dominantes em cada etapa da extração. Também foi demonstrado que um maior diâmetro de partícula influencia de forma direta e negativa o processo de extração. O mecanismo que prevaleceu e limitou a ESC foi a difusão interna do soluto. O modelo matemático de abordagem fenomenológica apresentou um bom ajuste aos dados experimentais, normalmente os subestimando principalmente até os 2000 s; após este período, o modelo converge para o esgotamento do soluto, atendendo à condição de

concentração inicial na partícula, a qual foi fornecida. Esta diferença na velocidade inicial de extração pode estar relacionada com a presença de irregularidades, fraturas e caminhos preferenciais existentes nas partículas utilizadas nos experimentos, uma vez que o modelo as considera como esferas perfeitas e de estrutura uniforme. Assim, as simulações impõem um ritmo inicial mais lento para a extração a partir de partículas uniformes, comparativamente ao que ocorre com as partículas experimentais obtidas por moagem e que por isso podem deixar o soluto mais acessível à ação inicial do solvente.

Os resultados obtidos justificam a pesquisa adicional das propriedades da SJ para obtenção de produtos naturais para as indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética.

REFERÊNCIAS

- AJAYI, I.A.. Comparative study of the chemical composition and mineral element content of *Artocarpus heterophyllus* and *Treculia africana* seeds and seed oils. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p.5125-5129, jul. 2008.
- AMPONSAH, I.K.; ANNAN, K.; KOFFUOR, G.A.; SARKODIE, J.A.; UMERIE, I.J.; OSEI-WUSU, S.. Anti-inflammatory and antioxidant properties of the ethanolic stem bark extract of *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg (Moraceae), **Der Pharmacia Lettre**, v. 6, n.3, p. 211–217, jan. 2014.
- ANDRADE, K.S.; TRIVELLIN, G.; FERREIRA, S.R.S.. Piperine-rich extracts obtained by high pressure methods, **The Journal of Supercritical Fluids**, v.128, p. 370–377, mai. 2017.
- Association of Official Methods of Analytical Chemist, AOAC. **Official Methods of Analysis**, 18. ed., AOAC International, Maryland, 2005.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I.S.M.; RAHMAN, M.M.; SHARIF, K.M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M.H.A.; GHAFUOR, K.; NORULAINI, N.A.N.; OMAR, A.K.M.. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, ago. 2013.
- BALIGA, M.S.; SHIVASHANKARA, A.R.; HAIADKA, R.; DSOUZA, J.; BHAT, H.P.. Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): a review. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p.1800-1811, ago. 2011.
- BARWICK, V.J.. Strategies for solvent selection - a literature review, **Trends Analytical Chemistry**, v.16, p. 293–309, 1997.
- BOGDANOVIC, A.; TADIC, V.; RISTIC, M.; PETROVIC, S.; SKALA, D.. Optimization of supercritical CO₂ extraction of fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum* L.) and calculating of extracts solubility. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 117, p. 297–307, jul. 2016.
- BOROSKI, M.; VISENTAINER, J.; COTTICA, S.; MORAIS, D.. **Antioxidantes Princípios e Métodos Analíticos**. 1.ed. Curitiba: Appris, 2015. 137p.
- BRUNNER, G. **Gas Extraction: An Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes**. 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1994. 396p.
- BRUNNER, G.. Mass Transfer from Solid Material in Gas Extraction. **Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie**, v. 88, p.887-891, set.1984.
- BRUSOTTI, G.; CESARI, I.; DENTAMAROA, A.; CACCIALANZAA, G; MASSOLINI, G.. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: the role of analysis in the ethnopharmacological approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 218–228, abr. 2014.

BULLEY, N.R.; FATTORI, M.; MEISEN, A.; MOYLS, L.. Supercritical fluid extraction of vegetable oil seeds. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 61, n. 8, p. 1362-1365, ago. 1984.

BURCI, L.M.; DA SILVA, C.B.; RONDON, J.N.; DA SILVA, L.M.; ANDRADE, O. G.; DE MIGUEL, S.F.; DIAS, J. DE F.G.; MIGUEL, M.D.. Acute and subacute (28 days) toxicity, hemolytic and cytotoxic effect of *Artocarpus heterophyllus* seed extracts. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 1304-1308, fev. 2018.

CADENA-CARRERA, S. E.; TRAMONTIN, D. P.; BELLA-CRUZ, A.; BELLA-CRUZ, R. C.; MÜLLER, J. M.; HENSE, H.. Biological activity of extracts from guayusa leaves (*Ilex guayusa* Loes.) obtained by supercritical CO₂ and ethanol as cosolvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 152, 104543, mai. 2019.

CARRILHO, E; TAVARES, M.C.H.; LANÇAS, F.M.. Fluidos supercríticos em química analítica. I. Cromatografia com fluido supercrítico: conceitos termodinâmicos. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 509-515, ago. 2001.

CHANDA, I.; CHANDA, S.R.; DUTTA, S.K.. Anti-inflammatory activity of a protease extracted from the fruit stem latex of the plant. **Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics**, v. 1, n. 2, p. 70–72, ago. 2009.

Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically**, 10 ed., Pennsylvania, 2015.

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

DEL VALLE, J. M. Extraction of natural compounds using supercritical CO₂: Going from the laboratory to the industrial application. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 96, p. 180–199, out. 2015.

DOMINGUES, R.M.A.; DE MELO, M.M.R.; OLIVEIRA, E.L.G.; NETO, C.P.; SILVESTRE, A.J.D.; SILVA, C.M.. Optimization of the supercritical fluid extraction of triterpenic acids from *Eucalyptus globulus* bark using experimental design. **The Journal of Supercritical Fluids**, 74, p. 105–114, fev. 2013.

Ecycle – Figura. Disponível em: <https://www.ecycle.com.br/component/content/article/62-alimentos/3645>>. Data de Acesso:17/03/2018.

Essas e outras – Figura. Disponível em: <<http://www.essaseoutras.com.br/beneficios-da-jaca-para-saude-calorias-vitaminas-nutrientes-remedios-caseiros/>>. Data de acesso: 17/03/2018.

FAKHRUDIN, N.; HASTUTI, S.; ANDRIANI, A.; WIDYARINI, S.; NURROCHMAD, A.. Study on the antiinflammatory activity of *Artocarpus altilis* leaves extract in mice. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v.7, n. 6, p. 1080–1085, out. 2015.

FANG, S.-C.; HSU, C.-L.; YEN, G.-C.. Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the fruits of *Artocarpus heterophyllus*. **Journal of Agricultural and Food**

Chemistry, v. 56, n. 12, p. 4463–4468, mai. 2008.

FERNANDES, F.; FERRERES, F.; GIL-IZQUIERDO, A.; OLIVEIRA, P.A.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P.B.. Accumulation of primary and secondary metabolites in edible jackfruit seed tissues and scavenging of reactive nitrogen species. **Food Chemistry**, v. 233, p.85-95, abr. 2017.

FERREIRA, S. R. S.. **Cinética de transferência de massa na extração supercrítica de óleo essencial de pimenta-do-reino**. Campinas. 1996. p. 238. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.

FERRO, D.M.; MAZZUTTI, S.; VITALI, L.; OLIVEIRA MÜLLER, C.M.; FERREIRA, S.R.S.. Integrated extraction approach to increase the recovery of antioxidant compounds from *Sida rhombifolia* leaves. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 149, p. 10–19, jul. 2019.

FINGOLO, C.; SANTOS, T.S.; VIANA FILHO, M.D.M.; KAPLAN, M.A.C.. Triterpene Esters: Natural Products from *Dorstenia arifolia* (Moraceae). **Molecules**, v. 18, n. 4, p.4247-4256, abr. 2013.

FONSÊCA, S. D. G.. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. p. 62, 2005. Disponível em: www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF. Data de acesso: 23/08/2018.

GASPARETTO, A.; BELLA CRUZ, A.; WAGNER, T.M.; BONOMINI, T.J.; CORREA, R.; MALHEIROS, A.. Seasonal variation in the chemical composition, antimicrobial and mutagenic potential of essential oils from *Piper cernuum*. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 256–263, jan. 2017.

GOMIDE, R.. **Operações unitárias** – operações com sistemas sólidos granulares. Edição do Autor. São Paulo: Reynaldo Gomide, 1983, v. 3, 289 p.

GOTO, M.; SATO, M.; HIROSE, T.. Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 26, n. 24, p. 401-407, dez. 1993.

GRISHAM, M.B.; JOHNSON, G.G.; LANCASTER Jr, J.R.. Quantitation of nitrate and nitrite in extracellular fluids. **Methods Enzymology**, v. 268, p. 237–246, 1996.

HARYOTO, H.; WIDOWATI, P.. Cytotoxicity of methanol leaf extract of *Artocarpus altilis*, *Artocarpus heterophyllus* and *Artocarpus camansi* against MCF7 breast cancer cells. **Journal of Nutraceuticals Herbal Medicine**, v. 1, n. 1, p. 16–23, fev. 2018.

JAGTAP, U.B.; BAPAT, V.A.. Artocarpus: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 2, p. 142-166, mai. 2010.

JAGTAP, U.B.; PANASKAR, S.N.; BAPAT, V.A.. Evaluation of antioxidant capacity and phenol content in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) fruit pulp. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, p. 99-104, mar. 2010.

- KHAN, M.R.; OMOLOSO, A.D.; KIHARA M.. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. **Fitoterapia**, v. 74, n. 5, p. 501–505, jul. 2003.
- KUMORO, A.C.; HASAN, M.; SINGH, H.. Effects of solvent properties on the Soxhlet extraction of diterpenoid lactones from *Andrographis paniculata* leaves. **Science Asia**, v. 35, p. 306–309, jun. 2009.
- LEE, C.W.; KO, H.H.; LIN, C.C.; CHAI, C.Y.; CHEN, W.T.; YEN, F.L.. Artocarpin attenuates ultraviolet B-induced skin damage in hairless mice by antioxidant and anti-inflammatory effect. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 123–129, out. 2013.
- MADRUGA, M.S.; ALBUQUERQUE, F.S.M.; SILVA, I.R.A.; AMARAL, D.S.; MAGNANI, M.; NETO, V.Q.. Chemical, morphological and functional properties of Brazilian jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) seeds starch. **Food Chemistry**, v. 143, p.440-445, jan. 2014.
- MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.; ZOGHBI, M.G.B.. Aroma volatiles from two fruit varieties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Food Chemistry**, v. 85, n. 2, p.195-197, abr. 2004.
- MANSUR, J.; BREDER, M.; MANSUR, M.; AZULAY, R.. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 61, n. 4, p. 167–172, jul. 1986.
- MARTINS, P.F.; DE MELO, M.M.R.; SARMENTO, P.; SILVA, C.M.. Supercritical fluid extraction of sterols from *Eichhornia crassipes* biomass using pure and modified carbon dioxide. Enhancement of stigmasterol yield and extract concentration. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 441–449, set. 2016a.
- MARTINS, P.F.; DE MELO, M.M.R.; SILVA, C.M.. Techno-economic optimization of the subcritical fluid extraction of oil from *Moringa oleifera* seeds and subsequent production of a purified sterols fraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 682–689, jan. 2016b.
- MATSUO, M; SASAKI, N; SAGA, K; KANEKO, T.. Cytotoxicity of flavonoids toward cultured normal human cells. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 2, p. 253–259, fev. 2005.
- MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S.R.S.; RIEHL, C.A.S.; SMANIA Jr, A; SMANIAC, F.A.; MARTÍNEZ, J.. Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: antioxidant and antimicrobial activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 48–56, out. 2012.
- MAZZUTTI, S.; RIEHL, C.A.S.; IBAÑEZ, E.; FERREIRA, S.R.S.. Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 211–220, jan. 2017.
- MEERA, M.; RUCKMANI, A.; SARAVANAN, R.; LAKSHMIPATHY, R.. Anti-inflammatory effect of ethanolic extract of spine, skin and rind of Jackfruit peel – a comparative study. **Natural Product Research**, v. 32, n. 22, p. 1-5, set. 2017.
- MELECCHI, M.I.S.. **Caracterização química de extratos de *Hibiscus tiliaceus* L: estudo comparativo de métodos de extração**. Porto Alegre. 2005. p. 197. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MELLOR, J. D.; BELL, G. A.. **Fundamentals of Freeze-drying**. North Ryde: Academic Press, 1978. 386 p.

MUNIRA, S.; NESA, L.; ISLAM, M.; SULTANA, S.; HOSSAIN, S.; KHANAM, H.; KABIR, H.; AKANDA, R.; RASHID, M.. Analgesic, anti-inflammatory and cns activities of the methanolic extract of *Artocarpus heterophyllus* seed. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p. 91–103, abr. 2015.

NAGALA S.; RAPAKA G.; TAMANAM R.R.. A comparative study of the antimicrobial activities of five varieties of essential oils from the seeds of *Artocarpus*. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 10, n. 6, p. 17-25, nov. 2015.

NAGALA, S.; TAMANAM, R.R.. *Artocarpus* methanol extract seed oils - a comparative study. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, n. 4, p. 1781-1789, abr. 2017.

NAGALA, S.; TAMANAM, R.R.. Lipid profiles of five varieties *Artocarpus* seed oils by GC/MS - a comparative study. **International Journal of Advanced Research**, v. 4, n. 11, p. 1251-1257, nov. 2016.

NAGALA, S.; YEKULA, M.; TAMANAM, R.R.. Antioxidant and gas chromatographic analysis of five varieties of jackfruit (*Artocarpus*) seed oils. **Drug Invention Today**, v. 5, n. 4, p.315-320, dez. 2013.

National Institute of Standards and Technology, NIST, **Webbook Mass Spectral Library**, 2011.

NYAM, K.L.; TAN, C.P.; LAI, O.M.; LONG, K.; MAN, B.C.. Optimization of supercritical CO₂ extraction of phytosterol-enriched oil from *Kalahari melon* seeds. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 1432–1441, 2011.

NYAM, K.L.; TAN, C.P.; LAI, O.M.; LONG, K.; MAN, Y.B.C.; Optimization of supercritical fluid extraction of phytosterol from roselle seeds with a central composite design model. **Food and Bioprocess Technology**, v. 88, n. 2-3, p. 239–246, set. 2010.

OETJENG, W. O.. **Freeze-Drying**. Lübeck: Wiley–VCH, 1999. 280 p.

OJWANG, R.A.; MUGE, E.K.; MBATIA, B.N.; MWANZA, B.K.; OGOYI, D.O.. Compositional, elemental, phytochemical and antioxidant characterization of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) pulps and seeds from selected regions in Kenya and Uganda. **European Journal Medicinal Plants**, v. 23, n. 3, p. 1–12, mai. 2018.

OKOYE, E.. Extraction, characterization and antimicrobial activity of *Artocarpus heterophyllus* seed oil. **Journal of Scientific and Engineering Research**, v. 3, n. 3, p.473-476, 2016.

OLUDEMI, T.; BARROS, L.; PRIETO, M.A.; HELENO, S.A.; BARREIRO, M.F.; FERREIRA, I.C.F.R.. Extraction of triterpenoids and phenolic compounds from *Ganoderma lucidum*: optimization study using the response methodology. **Food & Function**, v. 9, n. 1, p. 209–226, jan. 2018.

PANDEY, D. K.; KAUR, P.. Optimization of extraction parameters of pentacyclic triterpenoids from *Swertia chirata* stem using response surface methodology. **3 Biotech**, v. 8, n.3, mar. 2018.

PATEL, R.M.; PATEL, S.K.. Cytotoxic activity of methanolic extract of *Artocarpus heterophyllus* against A549, Hela and MCF-7 cell lines. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 7, p. 167–171, ago. 2011.

PEREIRA, C.G.; MEIRELES, M.A.A.. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v. 3, p. 340–372, 2010.

PEREIRA, V.J.; KAPLAN, M.A.C.. *Artocarpus* um gênero exótico de grande bioatividade. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 1, p.1-15, mar. 2013.

PÉRES, V.F.; SAFFI, J.; MELECCHI, M.I.S.; ABAD, F.C.; De ASSIS JACQUES, R.; MARTINEZ, M.M.; OLIVEIRA, E.C.; CARAMÃO, E.B.. Comparison of Soxhlet, ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of terpenes, fatty acids and Vitamin E from *Piper gaudichaudianum* Kunth. **Journal of Chromatography A**, v. 1105, n. 1-2, p. 115–118, jan. 2006.

PETERSEN, H. de S.. **Projeto de engenharia do processo de extração supercrítica de cafeína a partir da erva mate**. Porto Alegre. 2017. p. 65. Dissertação de mestrado – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Plantas medicinais brasileiras – Figura . Disponível em:
<<http://plmedbrasil.blogspot.com.br/2015/04/a-jaqueira-e-uma-grande-arvore-da.html>>. Data de acesso: 17/03/2018.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A; YANG, M.; RICE-EVANS, C.. Antioxidant activity applying an improved ATBS radical free cadition decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n.9-10, p. 1231–1237, mai. 1999.

REIS-VASCO, E.M.C.; COELHO, J.A.P.; PALAVRA, A.M.F.; MARRONE, C.; REVERCHON, E.. Mathematical modelling and simulation of pennyroyal essential oil supercritical extraction. **Chemical Engineering Science**, v. 55, n. 15, p. 2917-2922, ago. 2000.

REVERCHON, E.; DONSI, G.; OSSÉO, L.S.. Modeling of Supercritical Fluid Extraction from Herbaceous Matrices. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 32, n. 11, p. 2721-2726, nov. 1993.

REVERCHON, E.; De MARCO, I.. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, n. 2, p. 146–166, set. 2006.

REVERCHON, E.; MARRONE, C.. Supercritical extraction of clove bud essential oil: isolation and mathematical modeling. **Chemical Engineering Science**, v. 52, n. 20, p. 3421-3428, out. 1997.

REVERCHON, E.. Mathematical modeling of supercritical extraction of sage oil. **Journal of American Institute of Chemical Engineers**, v.42, n. 6, p. 1765- 1771, jun. 1996.

REVERCHON, E.. Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 10, n. 1, p. 1–37, 1997.

ROY, B. C.; GOTO, M.; HIROSE, T.. Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide: experiments and modeling. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 35, n. 2, p.607-612, fev. 1996.

SAJFRTOVÁ, M.; LIČKOVÁ, I.; WIMMEROVÁ, M.; SOVOVÁ, H.; WIMMER, Z.. β -Sitosterol: supercritical carbon dioxide extraction from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 4, p. 1842–1850, abr. 2010.

SAKINTUNA, B.; UHADAR, O. C.; YÜRÜM, Y.. Diffusion of volatile organic chemicals in porous media. 2. Alcohol/templated porous carbon systems. **Energy & Fuels**, v. 20, n. 3, p. 1269–1274, mar. 2006.

Saúde dicas – Figura. Disponível em: < <https://www.saudedicas.com.br/dietas-e-alimentos/jaca-uma-extraordinaria-fruta-da-india-2436681>>. Data de acesso:17/03/2018.

SAYRE, R.M.; AGIN, P.P.; LEVEE, G.J.; MARLOWE, E.. A comparison of *in vivo* and *in vitro* testing of sunscreens formulas. **Photochemistry and Photobiology**, v. 29, n. 3, p. 559–566, mar. 1979.

SHANMUGAPRIYA, K.; SARAVANA, P.S.; PAYAL, H.; MOHAMMED, S.P.; BINNIE W.. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of *Artocarpus heterophyllus* and *Manilkara zapota* seeds and its reduction potencial. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n.5, p.256-260, out. 2011.

SHARMA, A.; GUPTA, P.; VERMA, A.K.. Preliminary nutritional and biological potential of *Artocarpus heterophyllus* L. shell powder. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p.1339-1349, mar. 2015.

SHRIKANTA, A.; KUMAR, A.; GOVINDASWAMY, V.. Resveratrol content and antioxidant properties of underutilized fruits. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 1, p.383-390, mai. 2013.

SILVA, C. M., FILHO, C.A., QUADRI, M.B., MACEDO, E.A.. Binary diffusion coefficients of α -pinene and β -pinene in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 32, n. 1-3, p. 167-175, dez. 2004.

SILVA, G.O.; TAKIZAWA, F.F.; PEDROSO, R.A.; FRANCO, C.M.L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S.B.S.. Physicochemical characteristics of modified food starches commercialized in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 1, p.188–197, jan. 2006.

SILVA, J.H.V.; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, M.L.G.; SILVA, E.L.. Effect of the addition of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) seeds bran in dietary on the egg production, yolk

pigmentation and dropping humidity in japanese quails. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p.523–530, mar. 2007.

SILVA, M.L.; DAVID, J.P.; SILVA, L.C.R.C; SANTOS, R.A.F; DAVID, J.M.; LIMA, L.S.; REIS, P.S.; FONTANA, R.. Bioactive oleanane, lupane and ursane triterpene acid derivatives. **Molecules**, v. 17, n. 10, p.12197-12205, out. 2012.

SINGLETON, V.; ORTHOFER, R. ; LAMUELA-RAVENTÓS, R.. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

Sítio da mata – Figura. Disponível em: <<https://www.sitiodamata.com.br/especies-de-plantas/frutiferas/jaca-dura-artocarpus-heterophyllus>>. Data de acesso: 17/03/2018.

SOARES, J.C.J.. **Avaliação da seletividade da extração com CO₂ supercrítico das folhas de *Eugenia involucrata* (cerejeira-do-mato) da floresta ombrófila mista de Santa Catarina**. Florianópolis. 2017. p. 123. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina.

SOONG, Y.; BARLOW, P.J.. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food Chemistry**, v. 88, n. 3, p.411-417, dez. 2004.

SOUZA, T.S.; CHAVES, M.A.; BONOMO, R.C.F; SOARES, R.D.; PINTO, E.G. COTA I.R.. Desidratação osmótica de frutículos de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.): aplicação de modelos matemáticos. **Acta Scientiarum Technology**, v. 31, n. 2, p.225-230, 17 jun. 2009.

SOVOVÁ, H.. Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 33, n. 1, p. 35–52, jan. 2005.

SOVOVÁ, H.. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂ – I. modelling of extraction curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 3, p. 409-414, jan. 1994.

SOVOVÁ, H.. Steps of supercritical fluid extraction of natural products and their characteristic times. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 66, p. 73–79, 2012.

SPARKMAN, D.O.; PENTON, Z.E.; KITSON, F.G.. **Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide**. 2 ed. San Diego: Elsevier, 2011. 611p.

SRINIVASAN, K.; KUMARAVEL, S.. Mass spectrometry analysis of volatile constituents of jackfruit powder. **Indo American Journal of Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 4, p. 331-339, 2016.

STEFFANI E.. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *linaloolifera* Fujita) utilizando CO₂**. Florianópolis. 2003. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina.

SWAMI, S B; TAKOR, N.J.; HALDANKAR, P.M.; KALSE, S.B.. Jackfruit and its many functional components as related to human health: a review. **Comprehensive Reviews - In Food Science and Food Safety**, v. 11, n. 6, p.565-576, out. 2012.

TAYLOR, L.T.. **Supercritical Fluid Extraction**. 1ª ed. New York: Wiley Interscience, 1996. 197 p.

THEIVASANTHI, T.; VENKADAMANICKAM, G.; PALANIVELU, M.; ALAGAR, M.. Nano sized powder of jackfruit seed: spectroscopic and anti-microbial investigative approach. **Nano Biomedicine and Engineering**, v. 3, n. 4, p. 215–221, nov. 2011.

ULIANA N.R.. **Polimento de biodiesel mediante contato com particulados ativos**. Florianópolis. 2016. p. 157. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina.

ULLOA, J.A.; BARBOSA, M.C.V.; VAZQUEZ, J.A.R.; ULLOA, P.R.; RAMÍREZ, J.C.R.; CARRILLO Y.S.; TORRES L.G.. Production, physico-chemical and functional characterization of a protein isolate from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seeds. **Cyta - Journal of Food**, v. 15, n. 4, p.497-507, abr. 2017.

Um pé de que – Figura. Disponível em: <<http://www.umpedeque.com.br/arvore.php?id=624>>. Data de acesso: 17/03/2018.

VAN DE LOOSDRECHT, A.A.; NENNIE, E.; OSSENKOPPELE, G.J.; BEELEN, R.H.J.; LANGENHUIJSEN, M.M.A.C.. Cell mediated cytotoxicity against U 937 cells by human monocytes and macrophages in a modified colorimetric MTT assay. **Journal Immunological Methods**, v. 141, p. 15–22, 1991.

VAZ, R. V., MAGALHÃES, A. L., VALENTE, A. A., SILVA, C. M.. Measurement and modeling of tracer diffusivities of α -pinene in supercritical CO₂, and analysis of their hydrodynamic and free-volume behaviours. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.107, p. 690-698, jan. 2016.

XU, X.; DONG, J.; MU, X.; SUN, L.. Supercritical CO₂ extraction of oil, carotenoids, squalene and sterols from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) bee pollen. **Food Bioproducts and Processing**, v. 89, n. 1, p. 47–52, jan. 2011.

ZHAO, L.; CHEN, X.J.; ZHU, J.; XI, Y.B.; YANG, X.; HU, L.D.; OUYANG, H.; PATEL, S.H.; JIN, X.; LIN, D.; WU, F.; FLAGG, K.; CAI, H.; LI, G.; CAO, G.; LIN, Y.; CHEN, D.; WEN, C.; CHUNG, C.; WANG, Y.; QIU, A.; YEH, E.; WANG, W.; HU, X.; GROB, S.; ABAGYAN, R.; SU, Z.; TJONDRO, H.C.; ZHAO, X.J.; LUO, H.; HOU, R.; PERRY, J.J.P.; GAO, W.; KOZAK, I.; GRANET, D.; LI, Y.; SUN, X.; WANG, J.; ZHANG, L.; LIU, Y.; BIN YAN, Y.; ZHANG, K.. Lanosterol reverses protein aggregation in cataracts. **Nature**, v. 523, p. 607–611, jul. 2015.

ZIBETTI, A. W.. **Desenvolvimento de um processo de separação de compostos bioativos de *Rosmarinus officinalis***. Florianópolis. 2012. p. 266. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Universidade Federal de Santa Catarina.

- ZZAMAN, W.. **Optimization of antioxidant extraction from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) seeds using response surface methodology.** Ghent. 2012. p. 77. Dissertação de Mestrado. Faculty of Bioscience Engineering Academic - Ghent University.
- ZURAIDAH, M.A.; JOHN, B.A.; KAMARUZZAMAN, Y.. Cytotoxicity on MCF7 cell lines exposed to an extract of the jacalin from jackfruit seed. **Science Heritage Journal**, v. 1, n. 2, p. 16–18, nov. 2017.
- WANG, Xiao-ling; DI, Xia-Xia; SHEN, T.; WANG, Shu-Qi; WANG Xiao-Ning. New phenolic compounds from the leaves of *Artocarpus heterophyllus*. **Chinese Chemical Letters**, v. 28, n. 1, p.37-40, jan. 2017.
- WEI, B.-L.; WENG, J.-R.; CHIU, P.-H.; HUNG, C.-F.; WANG, J.-P.; LIN, C.-N.. Antiinflammatory flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* and *Artocarpus communis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 10, p. 3867–3871, mai. 2005.
- WHITE, T.; FINDLEY, K.; DAWSON, T.; SCHEYNIUS, A.; BOEKHOUT, T.; CUOMO, C.; XU, J.; SAUNDERS, C.; Fungi on the skin: Dermatophytes and malassezia, **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 4, n. 8, p. 1–16, ago. 2014.