



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

Nathalia Horrana Santos

Obtenção de extratos de flor de jambu (*Acmella oleraceae*) por métodos não convencionais

Florianópolis

2021

Nathalia Horrana Santos

Obtenção de extratos de flor de jambu (*Acmella oleraceae*) por métodos não convencionais

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação
em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do título de mestra em
Engenharia de Alimentos
Orientador: Prof. Dr. André Wust Zibetti.
Coorientador: Prof. Dr. Thiago Caon.

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra

Santos, Nathalia Horrana

Obtenção de extratos de flor de jambu (*Acmella oleraceae*) por métodos não convencionais / Nathalia Horrana Santos ; orientador, André Wust Zibetti, coorientador, Thiago Caon, 2021.

93 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Extração. 3. Espilantol. I. Zibetti, André Wust. II. Caon, Thiago. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Nathalia Horrana Santos

Obtenção de extratos de flor de jambu (*Acmella oleraceae*) por métodos.

A presente dissertação foi avaliada e aprovada por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Dr.(a) André Wust Zibetti – Presidente - UFSC

Dr.(a) Leandro Guarezi Nandi – Membro externo - UFSC

Prof.(a) Dr.(a) Acácio Antonio Ferreira Zielinski – Membro interno - UFSC

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

Prof.(a) Dr.(a) Sandra Regina Salvador Ferreira
Coordenador(a) do Programa

Prof.(a) Dr.(a) André Wust Zibetti
Orientador(a)

Florianópolis, 2021.

Este trabalho é dedicado à minha família e todos aqueles que acreditaram em mim e estiveram comigo ao longo dessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela saúde e força neste momento. A minha mãe, Vilma Tereza, e ao meu tio, Erasmo Alves, que foram minha base e referência, tenho muito orgulho de tê-los ao meu lado. À toda minha família que sempre esteve presente me motivando e apoiando para que este sonho se concretizasse.

Aos meus orientadores Prof. Dr. André Wust Zibetti e Prof. Dr. Thiago Caon pelo conhecimento compartilhado neste período, me guiando e dando o suporte necessário para a realização deste trabalho. Obrigada também pela confiança, paciência e disponibilidade em ajudar.

Aos meus amigos Mayara, Eduardo, Juliane, Hélia, Paulo, Anderson, Jonas e Guilherme, que foram importantíssimos neste período, compartilhando conhecimento e bons momentos.

Aos colegas do LATESC, em especial ao Pedro Henrique, Laís Benvenuti e Mayara Kuasnei, principalmente neste período pandêmico, pelos momentos e conhecimentos compartilhados, proporcionando um bom ambiente de trabalho.

A Central de Análises do Departamento (EQA) e ao Dr. Leandro Guarezi pelo suporte nas análises cromatográficas realizadas.

À banca pela disponibilidade e contribuições.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

A Universidade Federal de Santa Catarina e ao PPGEAL pela oportunidade de fazer parte deste programa de pós-graduação incrível.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

O jambu (*Acmella oleraceae*) é uma planta comumente encontrada na região Norte do Brasil. Na medicina popular, é utilizado para tratar dores de dente, garganta e anemia. Essa herbácea tem despertado o interesse de pesquisadores e empresas graças às diferentes propriedades biológicas como atividade anti-inflamatória, anestésica e diurética, as quais têm sido associadas a presença do composto espilantol. Na literatura, este composto ou preparações desta planta são frequentemente obtidos por métodos convencionais que utilizam alta quantidade de solvente e demandam longo tempo de processo. Alternativamente, o fluido supercrítico também aparece em trabalhos mais recentes e, desta forma, foi utilizado como referência para fins de comparação com os métodos de extração não convencionais aqui selecionados (extração com líquido pressurizado (ELP) e extração assistida por ultrassom (EAU)). Para o CO₂ supercrítico, definiram-se como parâmetros de processo as temperaturas de 70 e 90 °C e pressões de 250 e 300 bar. Para os métodos por líquido pressurizado, consideraram-se diferentes concentrações de etanol em água (50, 70 e 100%), a 70 e 90 °C e pressão fixa em 100 bar. Por fim, para a extração assistida por ultrassom, consideraram-se as mesmas concentrações de etanol da ELP e temperatura de 70 °C. Para quantificação do espilantol nos extratos, utilizaram-se as técnicas de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e a cromatografia gasosa com detector de ionização de chama, onde definiram-se as quantidades de espilantol em relação a massa seca e em relação a massa de extrato seco. A extração com fluido supercrítico (EFS) apresentou maior teor de espilantol a 90 °C e 250 bar, que foi de 11,36%, e o rendimento não apresentou diferença estatística dentre os demais tratamentos avaliados. Para a ELP, menores concentrações de etanol, independente da temperatura, resultaram em maior rendimento, com valores similares ao EFS e teor de aproximadamente 2,5%. Já na EAU, os extratos preparados nas maiores concentrações de etanol (70 e 100%) proporcionaram maior rendimento de espilantol, porém, 50% menor que as demais técnicas e teor médio de 1,5%. Por outro lado, o tempo de processamento da EAU foi de apenas 5 min enquanto os demais métodos utilizaram 20 min. Apesar do método com fluido supercrítico ter resultado em maior quantidade de espilantol, o custo do equipamento é cinco vezes maior quando comparado a EAU. Em contrapartida, as técnicas que utilizaram etanol e água necessitam de uma etapa posterior de remoção de clorofila, devido ao aspecto esverdeado do extrato, o que demanda mais tempo e investimento financeiro.

Palavras-chave: espilantol; extração com líquido pressurizado; tecnologia supercrítica; extração assistida por ultrassom.

ABSTRACT

The jambu (*Acmella oleraceae*) is a plant commonly found in the northern region of Brazil. In folk medicine, it is used to treat toothache, sore throat and anemia. This plant has attracted the interest of researchers and companies due to various biological properties, including anti-inflammatory, anesthetic and diuretic activity. These pharmacological effects have been associated with the presence of the spilanthol. This compound or preparations of this plant are often obtained by conventional methods that use high amount of solvent and require a long processing time. Alternatively, the supercritical fluid method (SFE) also appears in more recent studies and, therefore, it was selected as a reference technique for comparison with the unconventional extraction methods [pressurized liquid extraction (PLE) and ultrasound-assisted extraction (UAE)]. For supercritical CO₂, temperatures of 70 and 90 °C and pressures of 250 and 300 bar were defined as process parameters. For the PLE, different concentrations of ethanol in water (50, 70 and 100%) at 70 and 90 °C of temperature and a pressure of 100 bar were considered. Finally, for UAE, the same concentrations of ethanol used in PLE were considered and a temperature of 70 °C. Gas chromatography techniques coupled with mass spectrometry and gas chromatography with flame ionization detector were used to quantify spilanthol in the extracts. The amount of spilanthol was expressed in relation to the dry plant mass and mass of dried extracted material. SFE showed greater content of spilanthol at 90 °C and 250 bar, which was 11.36%. The spilanthol yield did not show statistical difference among the other treatments evaluated. For PLE, lower concentrations of ethanol, regardless of temperature, resulted in higher compound yield, with values similar to the SFE. The content of spilanthol was approximately 2.5%. In the UAE, the extracts prepared in the highest concentrations of ethanol (70 and 100%) provided greater compound yield; however, 50% less than the other techniques. An average selectivity of 1.5% was achieved with this method. On the other hand, the processing time of the UAE was only 5 min while the other methods used at least 20 min. Although the SFE has resulted in a greater amount of spilanthol, the cost of the equipment is five times higher when compared to UAE. In contrast, the techniques that used ethanol and water require a later stage of chlorophyll removal due to the greenish aspect of the extract, which requires more time and investment.

Keywords: spilanthol; pressurized liquid extraction; supercritical technology; ultrasound-assisted extraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Jambu (<i>Acmella oleracea</i>).	19
Figura 2. Estrutura química do espilantol.....	20
Figura 3. Flores de jambu inteiras e desidratadas (A), flores de jambu moídas (B).	29
Figura 4. Diagrama de unidade de extração com fluido supercrítico.....	32
Figura 5. Diagrama da unidade de extração com líquido pressurizado.....	36
Figura 6. Diagrama do sistema de extração por sonda ultrassônica.....	39
Figura 7. Curva de calibração de espilantol obtida por CG-EM.	47
Figura 8. Exemplo de cromatograma obtido após injeção de 1,3 mg.g ⁻¹ de espilantol.....	47
Figura 9. Teor de espilantol após 50 e 92 dias de armazenamento a 6 °C. Cada curva representa uma solução com diferente concentração de espilantol. Etanol foi utilizado como meio reacional.....	48
Figura 10. Curva de calibração obtida por CG-CID.....	49
Figura 11. Cromatogramas de solução etanólica de espilantol (1,3 mg.g ⁻¹) após (A) 1, (B) 50, (C) 92 e (D) 126 dias de armazenagem entre 6 °C.	50
Figura 12. Cinética de extração com fluido supercrítico a 70 °C, 250 bar e 0,5 Kg.h ⁻¹ , ajustada pelo modelo de regressão linear por partes.	52
Figura 13. Cinética de espilantol a 70 °C, 250 bar e 0,5 Kg.h ⁻¹ , ajustada pelo modelo de Gaspar et al. (2003) (A), pelo modelo logístico proposto por Martínez et al. (2003) (B), pelo modelo de Martínez modificado (C) e por um modelo logaritmo (D).....	54
Figura 14. Modelos aplicados a curva cinética de espilantol por EFS, a 70 °C e 250 bar.	55
Figura 15. Cinética do rendimento de extrato (A) e do espilantol (B) em fluido supercrítico a 70 °C, 250 bar e 0,5 Kg.h ⁻¹	56
Figura 16. Cromatograma do extrato por CO ₂ supercrítico a 70 °C e 300 bar.....	59
Figura 17. Cinética de extração a 70 °C utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator, ajustada pelo modelo de Gaspar et al. (2003) (A), pelo modelo logístico proposto por Martínez et al. (2003) (B), pelo modelo de Martínez modificado (C) e por um modelo logaritmo (D).....	60
Figura 18. Modelos aplicados a curva cinética de extrato por ELP, a 70 °C e utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.	61
Figura 19. Cinética de espilantol a 70 °C utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator, ajustada pelo modelo de Gaspar et al. (2003) (A), pelo modelo logístico proposto por	

Martínez et al. (2003) (B), pelo modelo de Martínez modificado (C) e por um modelo logaritmo (D).....	62
Figura 20. Modelos aplicados a curva cinética de espilantol por ELP, a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.	63
Figura 21. Cinética do rendimento de extrato (A) e do rendimento de espilantol (B) por ELP a 70 °C utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.	64
Figura 22. Extratos obtidos por ELP a 70 °C e 100 bar, nas concentrações de 50, 70 e 100 % de etanol.....	65
Figura 23. Cromatograma do extrato por ELP a 70 °C e etanol 70% como líquido extrator..	67
Figura 24. Cinética de extração com ultrassom a 70 °C, utilizando etanol-água (50:50 v/v) como fluido extrator, ajustada pelo modelo de Gaspar et al. (2003) (A), pelo modelo logístico proposto por Martínez et al. (2003) (B), pelo modelo de Martínez modificado (C) e por um modelo logaritmo (D).	68
Figura 25. Modelos aplicados a curva cinética de extrato por EAU, a 70 °C, com etanol-água (50:50 v/v), como fluido extrator.	69
Figura 26. Cinética do espilantol extraído por ultrassom a 70 °C, utilizando 50 % de etanol em água como fluido extrator, ajustada pelo modelo de Gaspar et al. (2003) (A), pelo modelo logístico proposto por Martínez et al. (2003) (B), pelo modelo de Martínez modificado (C) e por um modelo logaritmo (D).....	70
Figura 27. Modelos aplicados a curva cinética de espilantol por EAU, a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.	71
Figura 28. Cinética do rendimento de extrato (A) e do rendimento de espilantol (B) a 70 °C utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.	72
Figura 29. Extratos obtidos por EAU a 70 °C, nas concentrações de 50, 70 e 100 % de etanol.	73
Figura 30. Cromatograma do extrato de jambu obtido por ultrassom a 70 °C com 70 % de etanol em água.	75
Figura 31. Extratos obtidos por EAU, ELP e EFS.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização física da flor de jambu.....	46
Tabela 2. Parâmetros do modelo de Regressão Linear por Partes aplicado a EFS.	52
Tabela 3. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de espilantol por EFS.	55
Tabela 4. Rendimento de espilantol e teor para as condições de extração avaliadas.	57
Tabela 5. Compostos majoritários identificados para os extratos por CO ₂ supercrítico.	58
Tabela 6. Parâmetros do modelo logaritmo aplicado a cinética referente a massa de extrato por ELP.	61
Tabela 7. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de espilantol por ELP.	63
Tabela 8. Rendimento de espilantol em diferentes condições de temperatura e proporção água/etanol. O tempo de extração foi de 20 min (definido na análise cinética).....	64
Tabela 9. Compostos majoritários identificados para os extratos por ELP a diferentes concentrações de etanol (50%, 70% e 100%).....	66
Tabela 10. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de extrato por EAU.....	69
Tabela 11. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de espilantol por EAU.	71
Tabela 12. Rendimento de espilantol nos ensaios analisados.	72
Tabela 13. Compostos majoritários identificados para os extratos por EAU a diferentes concentrações de etanol (50%, 70% e 100%).....	74
Tabela 14. Comparativo entre os métodos de extração avaliados.	76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Trabalhos com extração, purificação e atividades do espilantol.....	23
Quadro 2. Parâmetros dos ensaios de extração com fluido supercrítico.....	38
Quadro 3. Parâmetros para extração com líquido pressurizado.....	41
Quadro 4. Parâmetros utilizados para a extração assistida por ultrassom.....	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AIC- Critério de Informação de Akaike (*Akaike's Information Criterion*)
- ASE- Extração por solvente acelerada
- BIC- Critério de Informação de Bayesian (*Bayesian Information Criterion*)
- CER – Taxa de extração constante (*Constant extraction rate*)
- CG-CID- Cromatografia gasosa com detector por ionização de chama
- CG-EM- Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
- CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
- CO₂- Dióxido de carbono
- DC – Taxa de difusão controlada (*Diffusion Controlled*)
- EMQ- Erro médio quadrático
- ELP- Extração por líquido pressurizado
- FER – Taxa de extração decrescente (*Falling Extraction Rate*)
- LATESC – Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica
- NIST- Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia
- pH- Potencial hidrogeniônico
- TLC- Cromatografia de camada fina
- UHPLC – *Ultra-high performance liquid chromatography* (Cromatografia líquida de Ultra Alta Pressão)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	OBJETIVOS	16
1.1.1	Objetivo Geral.....	16
1.1.2	Objetivos Específicos	16
2	DIAGRAMA CONCEITUAL	17
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	18
3.1	JAMBU.....	18
3.2	ESPILANTOL	20
3.3	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	21
3.3.1	Extração com Fluido Supercrítico	24
3.3.2	Extração por Líquido Pressurizado	25
3.3.3	Extração Assistida por Ultrassom.....	26
3.4	MODELOS CINÉTICOS	27
3.5	MÉTODOS DE PURIFICAÇÃO	Erro! Indicador não definido.
3.5.1	Líquido-líquido	Erro! Indicador não definido.
3.5.2	Cromatografia <i>Flash</i>	Erro! Indicador não definido.
3.5.3	Membrana	Erro! Indicador não definido.
3.6	ESTABILIDADE DO ESPILANTOL	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	28
4.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DAS PARTÍCULAS	29
4.2.1	Determinação de umidade	29
4.2.2	Determinação do diâmetro médio de partícula	29
4.2.3	Determinação da massa específica aparente do leito.....	30
4.2.4	Determinação da massa específica real	31
4.2.5	Determinação de porosidade do leito.....	31

4.3	EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO	31
4.3.1	Descrição de funcionamento da unidade extratora	32
4.3.2	Cinética de extração com fluido supercrítico	33
4.3.3	Ensaio da extração com fluido supercrítico.....	35
4.4	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO	36
4.4.1	Descrição de funcionamento da unidade extratora	36
4.4.2	Cinética da extração com líquido pressurizado	37
4.4.3	Ensaio da extração com líquido pressurizado	38
4.5	EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM.....	39
4.5.1	Descrição de funcionamento da unidade extratora	39
4.5.2	Cinética da extração assistida por ultrassom.....	40
4.5.3	Ensaio da extração assistida por ultrassom.....	41
4.6	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO	41
4.6.1	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)	42
4.6.2	Cromatografia gasosa com Detector por Ionização de Chama (CG – CID)..	42
4.7	MODELOS MATEMÁTICOS APLICADOS AS CINÉTICAS	43
4.7.1	Modelo de Gaspar et al. (2003).....	43
4.7.2	Modelo de Martínez et al. (2003).....	43
4.7.3	Modelo de Martínez et al. (2003) modificado.....	44
4.7.4	Modelo logaritmo (empírico).....	44
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
5	RESULTADO E DISCUSSÃO	45
5.1	FLORES DE JAMBU	45
5.1.1	Caracterização da matéria prima	45
5.2	QUANTIFICAÇÃO DE ESPILANTOL NO CG-EM	46
5.3	AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO ESPILANTOL	48
5.4	EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO	51

5.5	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO	60
5.6	EXTRAÇÃO POR SONDA ULTRASSÔNICA	67
6	COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS.....	75
7	CONCLUSÃO.....	77
8	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	77
9	IMPACTOS DA PANDEMIA NO TRABALHO	78
	REFERÊNCIAS.....	79

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, houve um crescimento na utilização de produtos naturais pelas indústrias alimentícias e farmacêuticas, movimentando, anualmente, cerca de 20 bilhões de dólares no mercado mundial. Os benefícios fisiológicos e nutricionais que podem ser alcançados com estes produtos, o fato de apresentarem o selo *ecofriendly* e da baixa toxicidade representam as principais justificativas para tal expansão (FURUKAVA, 2003; BLANCO, 2018a).

Os extratos vegetais e/ou compostos isolados representam a principal fatia deste mercado, os quais podem ser obtidos a partir de diferentes partes das plantas e aplicados na indústria cosmética, alimentícia e/ou farmacêutica. Uma planta que tem despertado interesse de pesquisadores e empresas nacionais e multinacionais é o jambu (*Acmella oleraceae*) graças às propriedades farmacológicas de extratos e/ou preparações do mesmo. Além disto, representa uma importante fonte de renda para pequenos produtores do Pará, Amapá e Amazonas (COSTA, 2014; PINHEIRO, 2016).

Preparações desta planta tem demonstrado atividade diurética, anti-inflamatória e anestésica. Isto é atribuído principalmente a presença do composto *N*-isobutil-2(E), e 6(Z),8(E)-decatrienamida, popularmente e comercialmente conhecido como espilantol (COSTA, 2014). É umas das alquilamidas mais representativas da *Acmella oleraceae*, com estrutura química anfifílica, contendo uma amida relativamente polar e um ácido graxo apolar, o que faz com que possa ser extraído por diferentes tipos de solventes e metodologias.

Na literatura, o fluido supercrítico tem sido considerado como uma das técnicas mais eficientes para a obtenção do espilantol devido ao alto teor e rendimento. Dias et al (2017), por exemplo, encontraram 34% de teor de espilantol (g do composto/g de extrato) e 2,6% de rendimento (g do composto/g de matéria seca) por EFS preparada a partir das flores do jambu. Técnicas “verdes” de extração não convencionais, tais como, líquido pressurizado e ultrassom também aparecem em alguns estudos com outros exemplares de plantas, porém, ainda não foram consideradas para a obtenção do espilantol (MACHADO et al, 2015; MILANI et al., 2011; OLIVEIRA, 2019; PITIPANAPONG et al., 2007).

No mercado, a forma sintética deste composto pode ser disponibilizada e é caracterizada por um alto valor agregado, já que 1 g do composto custa cerca de R\$ 240.000,00 (empresa LAS do Brasil Importadora). Na forma de extrato de jambu, há menores concentrações de espilantol, pois outros compostos também estão associados a matriz, e o custo é bem inferior.

Quanto maior é o número e concentração destes interferentes, mais difícil se torna a etapa da formulação, pois maiores serão as chances de se observarem problemas de estabilidade. Frente a isto, observa-se uma demanda por métodos de extração mais eficazes, com poucas etapas de purificação, que requerem um curto tempo de processo e baixa quantidade de solvente.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar os métodos de extração não convencionais para a obtenção de alto teor de espilantol no extrato de jambu.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Obter extratos de jambu a partir de métodos não convencionais tais como a extração com líquido pressurizado e extração por sonda de ultrassom, comparando-os com a extração por fluido supercrítico;
- Avaliar o rendimento de extração do espilantol com fluido supercrítico variando-se temperatura (70 e 90 °C) e pressão (250 e 300 bar);
- Avaliar o rendimento de extração do espilantol com líquido pressurizado utilizando diferentes concentrações de etanol (100%, 70% e 50%) e temperaturas (70 e 90 °C);
- Avaliar o rendimento de extração do espilantol mediante tratamento ultrassônico a 70 °C em diferentes concentrações de etanol (50, 70 e 100%);
- Desenvolver método de quantificação para o espilantol por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e cromatografia gasosa com detector por ionização de chama;
- Analisar a degradação do espilantol em meio etanólico;
- Ajustar modelos matemáticos aos dados das curvas cinéticas de extrato e espilantol obtidas pelos métodos de extração EFS, ELP e EAU;
- Identificar os compostos majoritários por CG-EM presentes nos extratos por EFS, ELP e EAU
- Analisar as vantagens e desvantagens dos métodos extrativos aqui selecionados.

2 DIAGRAMA CONCEITUAL

Obtenção de extratos a partir de flores de jambu (*Acmella oleraceae*) por métodos não convencionais

Por quê?

- O uso de produtos naturais nas indústrias movimenta, no mercado mundial, cerca de 20 bilhões de dólares a cada ano;
- Extrato de jambu apresenta diversas atividades biológicas (ex.: diurética, anti-inflamatória e anestésica);
- O espilantol, que tem sido associado a estas atividades biológicas, apresenta alto valor de mercado e tem sido obtido prioritariamente na forma sintética;
- Os métodos convencionais para obtenção de extratos vegetais utilizam solventes orgânicos em grande quantidade e demandam longo tempo de processo.

Quem já fez?

- Na literatura, há estudos que associaram o uso de métodos convencionais com diferentes técnicas cromatográficas e extração líquido-líquido;
- Há alguns estudos que utilizaram CO₂ sob altas pressões, encontrando maior rendimento e teor de espilantol nos extratos;
- Não foram encontrados estudos utilizando extração com líquido pressurizado e sonda de ultrassom para a obtenção de espilantol, que são metodologias não convencionais com alto potencial de extração.

Hipóteses:

- É possível obter uma quantidade de espilantol por extração com fluido supercrítico semelhante a encontrada na literatura?
- O teor de espilantol dos extratos obtidos por líquido pressurizado e sonda de ultrassom é maior quando comparado a extração com fluido supercrítico?
- Os métodos não convencionais possuem viabilidade técnica e econômica?

Como fazer?

- Adaptar as condições ótimas de extração do espilantol com fluido supercrítico encontradas na literatura ao equipamento disponível;
- Variar a concentração de solvente para as extrações com líquido pressurizado e ultrassom;
- Quantificar o rendimento e o teor de espilantol nos três processos extrativos;
- Avaliar vantagens e desvantagens de cada método.

3 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo, primeiramente apresentou-se uma revisão de literatura sobre a *Acmella oleraceae*, popularmente conhecida como jambu, cujas flores foram utilizadas para o preparo de extratos. Informações físico-químicas e propriedades biológicas relativas a seu principal composto bioativo, o espilantol, foram descritas na sequência. Além disto, realizou-se uma revisão das técnicas de extração já utilizadas e que apresentaram alto rendimento para o espilantol, bem como fundamentos de técnicas extrativas não convencionais. Processos de isolamento do espilantol foram apontados mais ao final desta seção.

3.1 JAMBU

A família Asteraceae é composta por 1.620 gêneros e 24.000 espécies de plantas distribuídas em praticamente todos os continentes, com exceção da Antártica. O jambu é uma destas representantes, o qual é popularmente conhecido como agrião do Pará, erva-maluca, abecedária, nhambu ou agrião bravo (PINHEIRO, 2016). Em 2015, esta planta foi classificada como pertencente à espécie *Acmella oleracea* (MONDIN et al., 2015), contudo, nomenclaturas como *Spilanthes acmella* var *oleraceae*, *Spilanthes oleraceae* e *Acmella ciliata* ainda podem ser encontradas em alguns estudos (CAVALCANTI, 2008; BORGES, 2009; BARBOSA, 2016a; VIEIRA, 2017).

O jambu é uma planta de regiões tropicais e subtropicais, encontrada no Norte da Austrália, América, África, Malásia, Bornéu, Índia e Sri Lanka, sendo muito utilizado na culinária e medicina popular (PINHEIRO, 2016; BLANCO, 2018a). No Brasil, tem ocorrência na região Norte. Na medicina popular, é utilizado para o tratamento de dores de dente, garganta, tuberculose e anemia. Na culinária, aparece em pratos como tucupí, tacacá, arroz paraense e pizza de jambu (BARBOSA, 2016a; MELO, 2018).

É uma herbácea perene, com altura de aproximadamente 50 cm, caracterizada como semierata ou quase rasteira, com caule cilíndrico, carnoso e coloração verde a roxo (Figura 1). Suas folhas são ovais e têm comprimento variando entre 23 a 75 mm de comprimento e 10 a 59 mm de largura. As flores são globosas, amareladas, apresentam longos pedunculados e medem cerca de 1 cm de diâmetro. Seu ciclo de vida dura de 45 a 70 dias, com germinação de 5 a 8 dias, colheita entre os dias 35 a 50 e propagação realizada por semente ou estaquia (BORGES, 2009; COSTA, 2014; PINHEIRO, 2016; SILVEIRA, 2017).

Nos últimos anos, o jambu tem despertado o interesse de pesquisadores e empresas nacionais e multinacionais graças as diversas propriedades farmacológicas, mas também por representar uma importante fonte de renda para pequenos produtores do Pará, Amapá e Amazonas (COSTA, 2014; PINHEIRO, 2016). Conforme levantamento realizado por feirantes do Pará em 2006, estima-se que cada vendedor de jambu da região metropolitana de Belém realiza operações de 15 Kg de planta por dia; com vendas globais de 3600 Kg/mês (BORGES, 2009).

Figura 1. Jambu (*Acmella oleracea*).



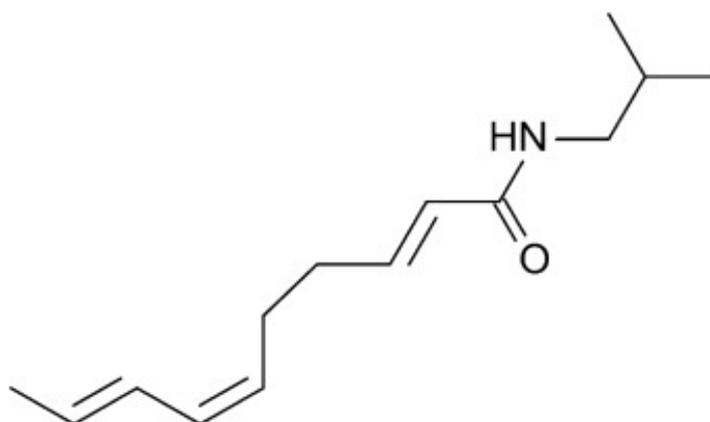
Fonte: Costa (2014).

O jambu apresenta várias propriedades terapêuticas que incluem atividade larvicida, diurética, antioxidante, anti-inflamatória e anestésica. Isto se deve, principalmente, a presença de espilantol, cuja nomenclatura química é *N*-isobutil-2(E), e 6(Z),8(E)-decatrienamida (COSTA, 2014). No extrato metanólico de todas as partes do jambu, Lavanya et al. (2016) identificou onze alcaloides, dentre elas, o espilantol; além de quatro esteróis, dez ésteres e sete álcoois. Dias et al. (2012) identificou o espilantol como composto majoritário do jambu, obtendo rendimentos de 65,4 e 47,3% nas flores e caules, respectivamente, após realizar um processo de extração em fluido supercrítico. Rocha et al. (2018), por sua vez, encontraram 84% deste composto no extrato hidroetanólico das flores do jambu.

3.2 ESPILANTOL

O espilantol (Figure 2), também conhecido como afinina, é umas das alquilamidas mais representativas na *Acmella oleraceae* devido suas atividades biológicas e efeito sensorial. Apresenta como nome IUPAC *N*-isobutil-2E, 6Z, 8E-decatrienamida; fórmula molecular $C_{14}H_{23}NO$, podendo ser encontrado em outras espécies como *Acmella ciliate*, *Acmella oppositifolia*, *Acmella reaccicans* e *Heliopsis longipes*. É um composto anfifílico, com uma amida relativamente polar e um ácido graxo menos polar. Isto possibilita sua extração em diferentes solventes como metanol, etanol, CO_2 supercrítico ou hexano. Cromatografia em camada delgada (TLC), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou cromatografia *flash* tem sido frequentemente consideradas na etapa de purificação do extrato (BARBOSA et al., 2016b; RONDANELLI et al., 2020).

Figura 2. Estrutura química do espilantol.



Fonte: Barbosa et al., (2016b).

Muitas das espécies citadas acima que contêm o espilantol são utilizadas na medicina popular em todo o mundo, especialmente para dor de dente e como anti-inflamatório. A partir disso, surgiram diversos estudos para identificação de atividades biológicas desse composto. Pesquisas recentes avaliaram seu papel para proteção de lesões da dermatite atópica (HUANG et al., 2019a) e como um potente analgésico, já que é capaz de superar as desvantagens de alteração da memória e estresse oxidativo de analgésicos opioides (PAUL et al., 2019).

Auxilia também, no controle de peso corporal e do tecido adiposo visceral (HUANG et al., 2019b). É anti-inflamatório, diurético, afrodisíaco, antimalárico, antinociceptivo e imunomodulador (DUBEY et al., 2013). Saraf & Dixit (2002) identificaram atividade ovicida,

larvicida e pupicida para ovos, larvas e pupas dos mosquitos *Anopheles culicifacies*, *Culex quifaciatus* e *Aedes aegypti*. Buitimea-Cantúa et al. (2019), por sua vez, relataram uma atividade antifúngica frente ao *Aspergillus parasiticus* e anti-aflatoxigênica.

Além de todas estas atividades biológicas supracitadas, de acordo a base de dados *World Intellectual Property Organization* (2019) e *European Patent Register* (2019), há 699 e 579 patentes registradas relacionadas à espilantol, respectivamente. Um maior número de registros foi encontrado em 2017, com mais de 100 patentes. A sensação de salivação e/ou formigamento proporcionada pelo composto é incluída em vários registros. Combinações de canabinóide e espilantol também têm sido consideradas para fins farmacêuticos, nutracêuticos e cosmeceuticos. Há patentes que incluem o espilantol em formulações que contém sais de potássio (amargo e metálico) para melhorar a palatabilidade, reforçando o gosto salgado. Também tem sido considerado em bebidas e alimentos que contenham ácidos graxos alifáticos nesta mesma linha de melhora da palatabilidade.

Em seu artigo de revisão, Rondanelli et al. (2020) apresentam produtos à base de espilantol como gel analgésico e antibacteriano oral, creme antirrugas para substituição da toxina botulínica, produtos antienvhecimento, preparações para banho com fins terapêuticos para reumatismo e condicionamento da pele. É também considerado como promotor de absorção, ou seja, é capaz de aumentar a permeação cutânea de algumas substâncias. É considerado seguro por agências como a FEMA (*Flavor and Extract Manufactures Association*) e a EFSA (*European Food Safety Authority*) (BLANCO, 2018a).

3.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Várias técnicas têm sido consideradas para a obtenção do espilantol, com diferenças quanto ao rendimento, tempo de extração, tipo de solvente e técnica de purificação (Quadro 1). Maior índice de pureza (mais de 90%) foi alcançado com a maceração seguida de operação de filtração em membrana de celulose, maceração ou extração supercrítica associada à cromatografia *flash* e maceração associada à cromatografia semi-preparativa.

Além destes métodos de extração apresentados na literatura, há outros métodos não convencionais que são promissores para a extração de compostos bioativos e que ainda não têm sido testados para a obtenção do espilantol. Dentre eles, destacam-se a extração com líquido pressurizado e a extração com sonda de ultrassom, cujos fundamentos serão descritos abaixo.

Como já mencionado, a extração com fluido supercrítico será utilizada para fins de comparação por se tratar de tecnologia verde.

Quadro 1. Métodos de extração, purificação e atividades biológicas do espilantol.

Autor	Processo de Extração	Parte da planta	Tipo de solvente	Método de isolamento	Pureza de espilantol	Atividade
Demarne e Passaro (2009)	Maceração	Folhas, caules e flores	Etanol/água	Membrana de celulose	99,9%	Antirrugas e bloqueio da contração muscular reversível.
Spelman et al. (2011)	Maceração	Raiz	Etanol/água	Cromatografia <i>flash</i>	84% de isômeros e 13% de espilantol	Redução do número de parasitas <i>Plasmodium yoelii</i> (malária)
Costa (2014)	Micro-ondas	Flores	Etanol e hexano	Cromatografia em camada delgada	92,3%	NA
Freitas (2014)	Maceração	Flores e folhas	Etanol	Carvão ativado e filtração com terra diatomácea	40%	Efeito antinociceptivo
Barbosa et al. (2016c)	Maceração	Folhas, caules e flores	Metanol	Extração líquido-líquido (hexano, diclorometano e acetato de etila)	84,28%	Inibição da enzima tirosinase
Cruz et al. (2014)	Maceração	Folhas, caules e flores	Metanol	Extração líquido-líquido (hexano e diclorometano)	99%	<i>Rhipicephalus microplus</i> e <i>Dermacentor nitens</i> (acaricida)
Veryser et al. (2016)	Extrato etanólico (Groupe Robertet)	Flores	NC	Cromatografia semi-preparativa	99,9%	Capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (garante uma ação central)
Rocha et al. (2018)	Maceração	Flores	Etanol/Água	NC	82%	Melhora do ciclo estral.
Blanco et al. (2019)	Extração supercrítica	Flores	Dióxido de carbono	Cromatografia <i>flash</i>	97%	Anti-inflamatório (mucosite intestinal)

NC = não considerado; NA = não avaliado

3.3.1 Extração com fluido supercrítico

O estado supercrítico ocorre quando uma substância está com pressão e temperatura acima do ponto crítico, gerando fluidos que podem estar em um estado líquido ou gasoso. Como o fluido de extração é geralmente o dióxido de carbono, trata-se de um processo extrativo menos poluente. O dióxido de carbono é um gás inerte, natural, de baixo custo, não inflamável, atóxico, e com temperatura e pressão crítica baixas (31,3 °C e 73,8 bar). Além disto, não deixa resíduos tóxicos nos extratos e por utilizar temperaturas relativamente baixas, diminui o risco de degradação térmica dos compostos (crucial para materiais termossensíveis). Permite também, o controle do poder de solvatação através de ajustes no binômio pressão/temperatura (QUEIROZ et al., 2001; VEGGI, 2009; BLANCO, 2018a).

É desejável que o analito seja solúvel neste fluido para a seleção desta técnica, contudo, um cossolvente pode ser selecionado. O álcool etílico é o mais utilizado, pois em pequenas quantidades, não compromete o uso do extrato como fármaco ou alimento e a quantidade utilizada é muito menor quando comparada a métodos convencionais de extração (CAVALCANTI, 2008; VEGGI, 2009).

Cavalcanti (2008) comparou o CO₂ supercrítico puro com o CO₂ supercrítico em presença de etanol e acetato de etila; em que flores, folhas e caules de jambu foram os materiais de partida. Observou-se maior rendimento global para o extrato etanólico, contudo, o método com CO₂ supercrítico puro resultou em quase duas vezes mais espilantol no extrato. Quando comparada a maceração a frio e a extração sob refluxo, este método também proporcionou maior teor de espilantol, chegando a ser quatro vezes mais seletivo que a extração sob refluxo.

A 320 bar e 70 °C, Dias et al. (2017) obtiveram 2,6% de rendimento bruto de espilantol (a partir das flores) e 34,6% de pureza. Blanco et al. (2018b), operando um extrator de aço inoxidável com leito fixo acoplado a separadores, encontrou um rendimento bruto de 0,25% de espilantol e teor de 6,4%. A 300 bar e 40°C, Barbosa et al. (2016d) obtiveram 1,07% de rendimento bruto de espilantol partindo-se das flores, folhas e caules de jambu liofilizadas. Silva (2018), aplicando as mesmas condições de Dias et al. (2017), encontrou um teor de espilantol de 29%. Esses resultados sugerem que o método de extração com fluido supercrítico apresenta um rendimento médio de 1,3% e teor de 23%.

Estes dados, ao serem relacionados com outros estudos que utilizaram métodos convencionais (BAE et al., 2010; SINGH & CHATURVEDI, 2012), apresentaram um

rendimento e teor de espilantol quase três vezes maior, com menor tempo de processamento. Além disto, Cavalcanti (2008) e Dias et al. (2012) ressaltam que o extrato obtido por fluido supercrítico apresenta uma coloração mais amarelada, sem a presença de pigmentos responsáveis pela coloração verde escura (comum em extratos com solventes orgânicos), o que torna o produto mais atrativo para a indústria. O extrato supercrítico também tem o benefício de ser livre de solvente residual, reduzindo danos ambientais.

3.3.2 Extração por Líquido Pressurizado

A extração por líquido pressurizado (ELP) ou solvente acelerada (ESA) baseia-se em um aumento de temperatura (até 200 °C) e pressão (até 200 bar), mantendo-se o solvente em um estado líquido mesmo acima de seu ponto de ebulição. Este aumento de temperatura faz com que as ligações entre soluto e matriz sejam rompidas, aumentando a solubilidade e difusividade e, conseqüentemente, reduzem a viscosidade e a tensão superficial do solvente. Apesar das altas temperaturas, reações oxidativas ou fotodegradação são evitadas já que o sistema é fechado (ZAIBUNNISA et al., 2009; SANTOS et al., 2012; MENDONZA et al., 2017).

Outro ponto positivo deste método é o curto tempo de operação e redução na quantidade de solvente quando comparado às técnicas convencionais; o que minimiza os impactos ambientais. Em contrapartida, o custo do equipamento e manutenção são relativamente altos, o que é equilibrado com o baixo custo de processo e o aumento de rendimento alcançado (CAVALCANTI, 2013; MACHADO, 2014; OLIVEIRA, 2018).

Quanto à operação, o sistema ELP pode apresentar uma configuração dinâmica e estática. Na configuração estática, o processo é composto por um ou vários ciclos onde o solvente preenche o extrator, permanecendo em contato com a amostra durante um tempo pré-determinado. Na configuração dinâmica, por sua vez, o solvente é bombeado continuamente, a uma vazão constante, para a célula extratora, e a coleta do extrato é realizada pela válvula de saída. Segundo Nieto et al. (2010), este segundo modo de operação é mais eficiente, já que evita a saturação do solvente, o que poderia limitar a capacidade extrativa (HALL, 2018; SANTOS, 2018).

Em um estudo que avaliou o rendimento de extração de charantina a partir do melão amargo, a ELP reduziu em aproximadamente 4 vezes o tempo de extração e 5 vezes o consumo de solvente em relação a extração com Soxhlet (Pitipanapong et al., 2007). Esta mesma técnica

aumentou o teor em cerca de 2,5 vezes durante a extração de antocianinas monoméricas totais e compostos fenólicos totais de cascas de “bandinhas” de feijão preto comparativamente a técnicas que utilizam baixa pressão (OLIVEIRA, 2019).

3.3.3 Extração Assistida por Ultrassom

A extração assistida por ultrassom consiste em um efeito mecânico realizado pela propagação de ondas sonoras em determinado meio, fazendo com que ocorra uma variação de pressão que leva a formação e implosão de bolhas de gás, processo esse denominado “cavitação”. A cavitação gera momentos alternados de compressão e expansão, aumentando a temperatura do sistema, com a ruptura de sólidos através de microjatos voltados para os mesmos. Consequentemente, há uma redução da resistência interna e um aumento da difusividade, facilitando a transferência de massa (ADAMS, 2002; MENDES, 2017; SANTOS, 2018; LIMA, 2019).

Essa técnica apresenta como principais vantagens o curto tempo de extração, o baixo consumo de solventes, alta seletividade e economia de energia. Pode ser empregada para extrair compostos sensíveis ao calor. O baixo custo de instalação e facilidade de operação despertam o interesse da técnica tanto em escala laboratorial quanto industrial (ADAMS, 2002; SILVA, 2015; MENDES, 2017; SANTOS, 2018).

Dentre os equipamentos de ultrassom, o banho e a sonda são os mais utilizados. O banho emite as ondas do fundo da cuba através de um líquido, permitindo a dispersão de energia nesse processo de transferência e influência nos sistemas reacionais. É mais utilizado para limpeza de material laboratorial. Já o ultrassom tipo sonda é mais utilizado em métodos baseados no rompimento de células, pois o transdutor fica em contato direto com o sistema reacional, podendo ser até 100 vezes mais eficiente que o banho (ADAMS, 2002; LIMA, 2019).

Em um estudo realizado com raiz de barbaça, Milani et al (2011) alcançaram um aumento de quase 50 % no rendimento do extrato ao utilizar a sonda de ultrassom em relação a um método convencional. Melhora da eficiência de extração com esta técnica foi também relatado por Jovanovic-Malinovka et al. (2015) em estudo com alho poró e por Machado et al. (2015) ao considerarem resíduos industriais de alcachofra.

3.4 MODELOS CINÉTICOS

O estudo cinético é geralmente conduzido com o objetivo de simular a reprodução dos dados experimentais em outras escalas e compreender os fenômenos do processo. Isto se dá pela definição dos parâmetros ajustados presentes nos modelos matemáticos. Ao escolher um modelo, deve-se considerar a propriedade física representada pelos parâmetros. Caso o modelo não inclua esta visão das observações experimentais, o estudo do processo será limitado (BENELLI, 2010; BISCAIA, 2007).

Modelos empíricos são obtidos a partir da avaliação de diferentes equações matemáticas e identifica a que melhor se ajusta aos dados experimentais. Usualmente, estes modelos não possuem significado físico pré-definido para seus parâmetros, havendo a possibilidade de uma análise matemática para uma possível explicação do comportamento e influência destes parâmetros. Há também modelos já apresentados na literatura que são análogos a teoria de transferência de calor, como o modelo proposto por Gaspar et al. (2003). Assim como, modelos baseados na transferência de massa, como o modelo de Martínez et al. (2003). O erro médio quadrático e os critérios de informação de Akaike e Bayesiano devem ser considerados para identificar o modelo que melhor se ajusta aos dados (BENELLI, 2010; FURTADO, 2019; SOH et al. 2019).

3.5 ESTABILIDADE DO ESPILANTOL

Freitas (2014) analisou o teor de espilantol durante 120 dias após desenvolver filmes bioadesivos de quitosana com extrato de jambu. As formulações foram armazenadas em embalagens plásticas impermeáveis revestidas com alumínio e fechamento hermético do tipo “zip” à 40 °C. Não foi observada degradação do espilantol nas condições avaliadas. Bae et al. (2010), por sua vez, avaliaram a degradação do espilantol armazenado com 75% de etanol e em diferentes temperaturas (ambiente, -20 e -80 °C). Após seis meses de monitoramento, o teor de espilantol diminuiu cerca de 10% e não houve influência da temperatura na degradação.

Silveira (2017), por sua vez, avaliou a termoestabilidade do extrato bruto de flores do jambu e do espilantol. Através de um acompanhamento cinético, observou-se um efeito negativo da temperatura sobre a estabilidade deste composto. Em presença de luz e oxigênio, também foram identificados fenômenos de instabilidade com a formação do subproduto

dioxiacmellamida. Frente a isto, a autora sugere o armazenamento do espilantol em solução hexânica ou metanólica, pois o solvente cria uma barreira que impede a sua oxidação.

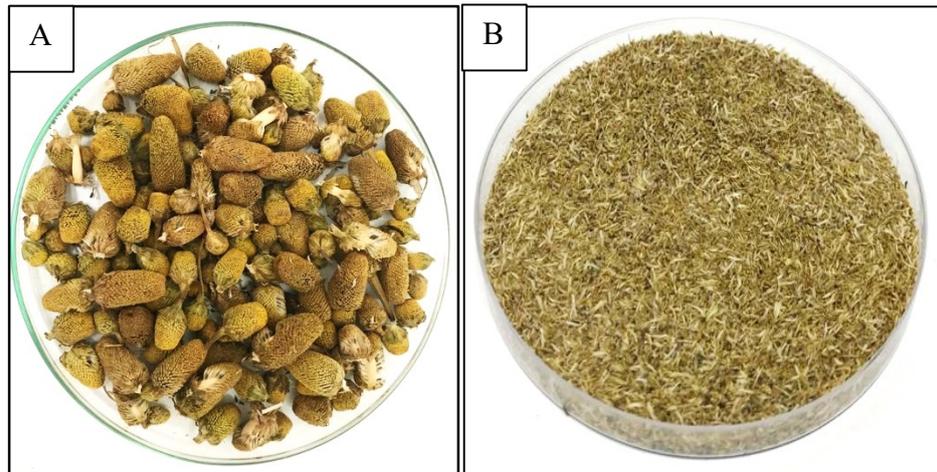
Pinheiro et al (2020) avaliou a estabilidade e alguns parâmetros termodinâmicos (entalpia e energia livre de Gibbs) do espilantol em solventes com diferentes polaridades. Ambientes polares de constante dielétrica moderada, tal como etanol, foram mais apropriados para a estabilização do composto. Savic et al (2021) avaliaram a fotoestabilidade de um extrato comercial hidroglicólico (propanodial/água) das partes aérea de jambu em diferentes solventes (metanol, etanol, solução salina e água). Maior estabilidade foi encontrada em solução metanólica e etanólica. Savic et al (2021) também indicou dois possíveis produtos da oxidação do espilantol, o isobutil-amida do ácido 6,9-di-hidroxi-deca-2,7-dienóico e isobutil-amida do ácido 8,9-di-hidroxi-deca-2,6-dienóico-amida.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

As flores de *Acmella oleracea* foram obtidas através da empresa Trevi Alimentos, localizada em Belém (PA), em dois lotes distintos, um obtido em fevereiro e outro em outubro de 2020. A matéria-prima foi disponibilizada na forma desidratada, com coloração entre amarelo e marrom (Figura 3A). Um moinho de facas (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil), disponibilizado pelo Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC), foi utilizado para reduzir o tamanho do material e, desta forma, aumentar a eficiência de extração. Peneiras Tyler, com tamanho de malhas variando entre 24 e 48 mesh (W.S. Tyler, Wheeling, EUA) foram utilizadas para padronizar o tamanho do material. Amostras presentes nas peneiras de tamanho 32 e 48 foram reprocessadas até a obtenção do tamanho desejado (Figura 3B). As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno, à 6 °C, e envoltas por papel alumínio para protegê-las da luz até o início das análises.

Figura 3. Flores de jambu inteiras e desidratadas (A), flores de jambu moídas (B).



Fonte: Autora (2021).

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DAS PARTÍCULAS

4.2.1 Determinação de umidade

A umidade foi determinada gravimetricamente de acordo com metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira (1988). Aproximadamente 1 g das flores de jambu moídas foi transferido para um cadinho previamente pesado e dessecado. A amostra foi então dessecada a 105 °C durante cinco horas, considerando-se concluída a análise quando a diferença entre duas pesagens consecutivas era menor que 5,0 mg (peso constante). A porcentagem de água na matéria-prima foi calculada pela equação abaixo, onde m_f é a massa da matéria-prima seca e m_i é a massa inicial dessa matéria-prima.

$$\%U = \left(\frac{m_f - m_i}{m_i} \right) * 100 \quad (1)$$

A determinação de umidade foi realizada em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão.

4.2.2 Determinação do diâmetro médio de partícula

A determinação do diâmetro médio de partícula foi efetuada através do cálculo proposto por Gomide (1983). Para tal, pesou-se aproximadamente 20 g da amostra seca e

triturada, adicionando-a a um conjunto de peneiras da série Tyler (mesh -32/+48 W.S. Tyler, Wheeling, EUA). O conjunto foi agitado manualmente por aproximadamente 60 minutos. Após este procedimento, as massas retidas sobre cada peneira foram pesadas para o cálculo do diâmetro médio de partícula, conforme as equações 2 e 3.

$$\overline{d}_s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta l_i}{d_i}}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta l_i}{d_i^3}}} \quad (2)$$

$$\Delta l_i = \frac{m_i}{M} \quad (3)$$

Onde: “ d_s ” é o diâmetro médio superficial das partículas (mm), “ m_i ” é a massa de amostra retida na peneira “ i ” (g), “ M ” é a massa total de amostra (g), “ d_i ” é o diâmetro médio da peneira “ i ” (mm) e “ n ” é o número total de frações.

A determinação do diâmetro médio de partícula foi realizada em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão.

4.2.3 Determinação da massa específica aparente do leito

A massa específica aparente (ρ_a) foi definida pesando-se a quantidade de amostra capaz de ocupar um volume pré-estabelecido, incluindo apenas os poros e não os espaços do interior das partículas. Para as medidas, utilizou-se uma proveta de 10 mL, aferindo-se a fração mássica de amostra que ocupou esse espaço, até o último marcador. Para o cálculo, considerou-se a equação abaixo, onde “ ρ_a ” é a massa específica aparente (g/cm^3), “ m ” é a massa da amostra (g), “ V ” é o volume convertido em cm^3 .

$$\rho_a = \frac{m}{V} \quad (4)$$

Essa análise foi realizada em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão.

4.2.4 Determinação da massa específica real

A massa específica real (ρ_r) foi determinada pela técnica de picnometria em gás hélio. Esta técnica segue o princípio de deslocamento de fluidos de Arquimedes, que consiste basicamente na variação da pressão do gás na câmara de volume conhecido, informando o volume real do sólido, desconsiderando os espaços vazios. Isto se deve a capacidade do gás em ser inerte e apresentar uma baixa tensão superficial, o que facilita sua entrada nos poros da amostra sem alterar suas características (BENELLI, 2014). A análise foi realizada em triplicata e o resultado obtido para densidade real foi expresso como média \pm desvio padrão.

4.2.5 Determinação de porosidade do leito

A porosidade do leito (ε) de extração foi determinada considerando-se a massa específica real e aparente da amostra de flores de jambu, incluindo os poros do leito e do interior das partículas. O cálculo foi realizado através da equação 5.

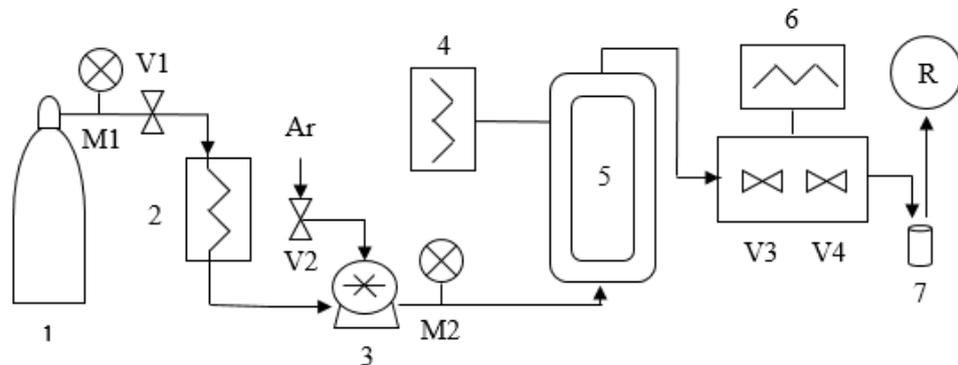
$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (5)$$

Onde “ ρ_r ” é a massa específica real das partículas e “ ρ_a ” é a massa específica aparente do leito em (Kg.m^{-3}). A determinação da porosidade do leito é adimensional e foi realizada em triplicata. O resultado expresso como média \pm desvio padrão.

4.3 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO

Os ensaios com fluido supercrítico foram realizados em modo dinâmico, na unidade disponível no LATESC da UFSC, que foi adaptada a partir da unidade desenvolvida pelo Laboratório *Thermische Verfahrertechnik* da *Technische Universitat Hamburg-Hamburg* (TUHH), na Alemanha. A representação esquemática do equipamento utilizado é apresentada na Figura 4.

Figura 4. Diagrama de unidade de extração com fluido supercrítico.



Fonte: Adaptado de Mazzutti (2016), Lasta (2017) e Santos (2018).

Onde:

- 1- Cilindro de CO₂ com 99,9% de pureza (White Martins, Joinville, SC);
- 2- Banho de resfriamento de CO₂ (Thermo Haake, C10 – K10, Niedersachsen, Alemanha);
- 3- Bomba de CO₂ (Maximator, modelo M111, Alemanha);
- 4- Banho de aquecimento do extrator (Thermo Haake, BT3, DC30 – B30, Niedersachsen, Alemanha);
- 5- Coluna de extração;
- 6- Banho de aquecimento da linha (Microquímica, MQBTZ99 – 20, Palhoça/SC);
- 7- Frasco âmbar (60 mL) para a coleta de amostras;
- R- Rotâmetro (Automation Products ABB 10A61);
- M1- Manômetro de controle do cilindro de CO₂;
- M2- Manômetro de controle do sistema;
- V1- Válvula de controle de fluxo de CO₂;
- V2- Válvula reguladora de ar comprimido (Tescom Cat N° 26-1761-24-161);
- V3- Válvula de saída de CO₂ no extrator (Sitec Microvalve 710.3012);
- V4- Válvula agulha micrométrica (Silec Shutoff Valve 710.3010);

4.3.1 Descrição de funcionamento da unidade extratora

A unidade consiste em um cilindro de CO₂ com tubo pescador, com saída regulada pela válvula V1, que permite a alimentação pela linha de extração a uma pressão de 60 bar. No

decorrer dessa linha, há um banho de resfriamento (2) abastecido com água e etileno glicol. Ele é responsável por manter o solvente líquido até sua entrada no multiplicador de pressão (3), que é alimentado por ar comprimido. A saída deste ar é controlada pela válvula V2, que permite um controle da pressão da bomba (varia entre 1 a 300 bar), encaminhando o CO₂ já pressurizado.

O CO₂ passa pelo extrator (5), que é um cilindro de aço inoxidável encamisado, com extremidades rosqueadas vedadas com algodão e preenchido com a amostra e esferas de vidro. Este aparato possui um volume interno de 100 mL, altura de 32 cm e diâmetro interno de 2 cm. Sua temperatura é controlada por um banho termostaticado (6), que mantém esse parâmetro estável durante todo o processo e evita a recristalização/precipitação do extrato durante o arraste. Para a saída do extrato junto ao solvente, são reguladas as válvulas V3 e V4, que controlam o fluxo de saída de solvente e despressurizam o sistema. Por fim, o extrato é coletado em frasco de vidro âmbar (7) e a vazão do solvente é mensurada por um rotâmetro (R).

4.3.2 Cinética de extração com fluido supercrítico

O comportamento cinético das flores do jambu durante o processo extrativo com fluido supercrítico foi realizado para determinar o tempo que maximiza o rendimento de espilantol. O método utilizado para a realização desta extração foi baseado no estudo de Dias et al (2017), que apresentava como condições ótimas de rendimento 320 bar e 70 °C. Devido às limitações do equipamento, uma pressão de 250 bar e 70 °C foram considerados para a realização da cinética.

Primeiramente, no interior da célula extratora, a extremidade inferior foi preenchida com algodão, adicionado 50 mL de esferas de vidro (3 mm de diâmetro), 13 g de flores de jambu e a extremidade superior foi vedada com algodão. O sistema foi acionado conforme item 4.3.1 e o fluxo de CO₂ ajustado para 0,5 Kg.h⁻¹ considerando outros trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa (LASTA, 2017; SILVA, 2018). O tempo de processo foi avaliado até estabilizar a curva de extração (etapa difusional), que foi em 420 min. O extrato foi coletado em frascos de vidro âmbar pré-pesados e identificados, em um intervalo de 5 min durante os primeiros 30 min, após, a cada 10 min até os 120 min, seguido por um intervalo maior de 30 min até os 420 min.

Durante o processo, concomitantemente, foi desenvolvida uma planilha no Excel com os dados das massas dos frascos antes e após a extração, de modo que o rendimento de extrato em relação a massa seca [R(%)] pudesse ser calculado (Equação 6).

$$R(\%) = \left(\frac{\left(\frac{e}{m} \right)}{\frac{\%U}{100}} \right) * 100 \quad (6)$$

$$e = f_t - f_i \quad (7)$$

Onde: “e” é a massa de extrato total (g); “f_t” é a massa do frasco com o extrato obtido no processo extrativo (g); “f_i” é a massa do frasco (g); “m” é a massa da amostra úmida utilizada (g); e, “%U” é a umidade da amostra.

Com a obtenção da curva de massa de extrato em relação ao tempo, aplicou-se o modelo de regressão linear por partes para ajuste dos dados com o auxílio do software Origin Pro 2015 (OriginLab, Northampton, EUA). Fixou-se o intervalo de confiança em 95%. Foram obtidas três retas que retratam as etapas de extração CER, FER e DC, as quais são representadas pelas equações abaixo 8, 9 e 10, respectivamente.

$$y = a_1 + k_1 t \quad (8)$$

$$y = a_1 + k_1 t_{CER} + k_2 (t - t_{CER}) \quad (9)$$

$$y = a_1 + k_1 t_{CER} + k_2 (t_{FER} - t_{CER}) + k_3 (t - t_{FER}) \quad (10)$$

Onde: “y” é a massa acumulada; “t” é o tempo; “a₁” é coeficiente linear da reta na etapa CER; “t_{CER}” é o tempo em que se encerra a etapa CER e inicia a FER; “t_{FER}” é o tempo em que se encerra a etapa FER e inicia a DC; e, “k₁”, “k₂” e “k₃” são os coeficientes angulares das retas.

Por fim, os extratos foram diluídos em aproximadamente 3 g de etanol e armazenados a 6 °C. Para a análise no cromatógrafo, os extratos foram colocados em banho de aquecimento (MQBMP-01, Microquímica Ind. Com. Repr. Ltda., Palhoça/SC) a 40 °C por 5 min, seguido de tratamento ultrassônico (USC-700/55 kHz, Unique Ind. e Com. de Produtos Eletrônicos Ltda., Indaiatuba/SP) para homogeneização (± 10 min).

Após análise cromatográfica (ver secção 4.6.1), o rendimento de espilantol foi calculado de acordo com a equação 11. O tempo definido para a extração foi de 20 min. Este processo foi realizado em triplicada.

$$E(\%) = \left(\frac{\left(\frac{q_s}{m} \right)}{\left(\frac{\%U}{100} \right)} \right) * 100 \quad (11)$$

Onde: “ q_s ” é a massa de espilantol total presente no extrato (g), “ m ” a massa da amostra umida utilizada (g) e “%U” a umidade da amostra.

Com os dados de massa de espilantol em relação ao tempo de extração, foi avaliado o ajuste dos modelos apresentados na seção 4.7.

4.3.3 Ensaios da extração com fluido supercrítico

Como o equipamento utilizado tem capacidade máxima de 300 bar, diferentes pontos com temperatura e pressão foram considerados (Quadro 2) a fim de obter rendimentos semelhantes ao encontrado por Dias et al. (2017). A vazão utilizada foi igual à aplicada na cinética (0,5 Kg de CO₂.h⁻¹). As densidades referentes as variáveis estudadas foram encontradas na biblioteca online NIST (2021).

Quadro 2. Parâmetros dos ensaios de extração com fluido supercrítico.

Ensaio	Pressão (bar)	Temperatura (°C)	Densidade de CO₂ (Kg.m⁻³)
EFS1	250	70	736,92
EFS2	300	70	787,97
EFS3	250	90	636,12
EFS4	300	90	703,27

Após o processo extrativo, calculou-se o rendimento de extrato conforme descrito no item 4.3.2. Os extratos foram diluídos em aproximadamente 3 g de etanol e armazenados a 6 °C. Para a análise no cromatógrafo, considerou-se o mesmo procedimento de preparo de amostras já descrito.

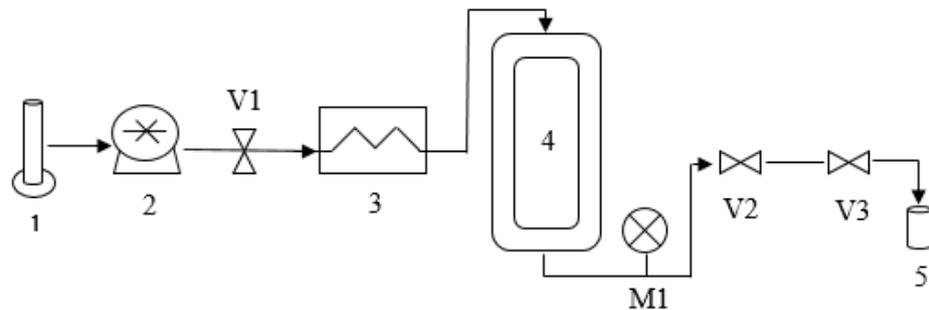
Na sequência, calculou-se o rendimento de espilantol (equação 11), o desvio padrão e o teor (S(%)), representado pela equação abaixo (12), onde “ q_s ” representa a massa de espilantol (g) e “ e ” é a massa de extrato (g).

$$S(\%) = \left(\frac{q_s}{e} \right) * 100 \quad (12)$$

4.4 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO

Os ensaios de extração com líquido pressurizado foram realizados na unidade de extração desenvolvida no LATESC/UFSC representada abaixo.

Figura 5. Diagrama da unidade de extração com líquido pressurizado



Fonte: Adaptado de Teixeira (2020) e Santos (2018).

Onde:

- 1- Proveta de 100 mL com etanol (EXODO 99,9%) e mistura etanol:água destilada, na proporção de cada ensaio;
- 2- Bomba de cromatografia líquida de alta eficiência (Waters 515 HPLC, MA – EUA);
- 3- Banho termostático (Microquímica, MQBMP 99-20, Palhoça, Brasil);
- 4- Coluna de extração;
- 5- Frasco âmbar (100 mL) para coleta da amostra;
- V1- Válvula de entrada de solvente (HIP, 10-11NFA-REG, PA – USA);
- V2- Válvula de controle da pressurização do sistema (HIP, 10-11NFA-REG, PA – USA);
- V3- Válvula de saída de extrato (Tescom, UK)
- M1- Manômetro para monitoramento da pressão (Header, modelo H-11, São Paulo – Brasil).

4.4.1 Descrição de funcionamento da unidade extratora

A unidade de extração com líquido pressurizado é composta por uma bomba de alta eficiência (2) responsável pelo envio do solvente (1) até a célula de extração (4). Apresenta capacidade de vazão que varia de 0,001 a 10,000 mL.min⁻¹ e pressão que pode alcançar 340

bar, contudo, usualmente seleciona-se 100 bar por questões de segurança. Para o processo, o solvente é primeiramente adicionado na proveta e a função de purga da bomba é acionada para realizar a limpeza da linha. Em paralelo, pode ser ajustado a temperatura no *datalogger* até estabilização do valor determinado. Essa temperatura é controlada por um banho termostaticado (3).

Para a montagem da célula, a amostra deve ser colocada junto a esferas de vidro (aproximadamente de 3 mm) para evitar empacotamento, e vedadas por algodão em ambas as extremidades do leito para barrar a saída de sólidos particulados na linha. Após o leito ser devidamente preenchido e selado, é aberta a válvula de entrada (V1) e ativado o bombeamento (comando *flow*) para a linha. As válvulas de saída V2 e V3 devem estar fechadas até o momento em que o manômetro (M1) apresentar a pressão desejada. Ao atingir a pressão estabelecida, as válvulas V2 e V3 devem ser abertas e ajustadas para que o extrato seja coletado em um frasco âmbar (5). A contagem do tempo de processo se inicia junto ao primeiro gotejamento.

4.4.2 Cinética da extração com líquido pressurizado

O comportamento cinético das flores do jambu durante o processo extrativo com líquido pressurizado foi estudado para determinar o tempo que maximiza o rendimento de espilantol. A temperatura foi definida com base na condição de operação encontrada na literatura para tecnologia supercrítica (Dias et al, 2017); e, os demais parâmetros, foram estabelecidos conforme resultado de testes prévios realizados no laboratório para outras amostras, selecionando-se uma vazão de 3 mL.min⁻¹ e 100 bar de pressão. Como solvente, considerou-se uma mistura etanol:água (50:50 v/v).

No interior da célula, primeiramente adicionou-se algodão na extremidade inferior, depois 50 mL de esferas de vidro (3 mm de diâmetro) misturadas com 3 g de flores de jambu e mais algodão foi adicionado na extremidade superior para vedar o sistema. O sistema foi acionado conforme item 4.4.1 e o extrato foi coletado em frascos de vidros âmbar pré-pesados e identificados, em intervalos de 3 min até 15 min, após, em intervalos de 5 min até os 40 min.

O extrato foi pesado e submetido a rotaevaporação a 40 °C (FISATOM 801, São Paulo, Brasil) até completa evaporação do etanol e ao processo de liofilização (Liotop L 101, São Carlos, Brasil) por 48 h. Os frascos foram pesados novamente e calculado a massa de extrato, como descrito no item 4.3.2 e representado pela equação 7.

O conteúdo do frasco foi diluído em aproximadamente 3 g de etanol e armazenados a 6 °C. Para a análise no cromatógrafo, adotou-se o mesmo protocolo de preparo de amostras do fluido supercrítico. Por fim, calculou-se o rendimento de espilantol (equação 11) e definiu-se 20 min como tempo de extração.

Com os dados de massa de extrato e massa de espilantol em relação ao tempo, foi avaliado o ajuste dos modelos apresentados na seção 4.7.

4.4.3 Ensaio da extração com líquido pressurizado

Para os ensaios de extração com líquido pressurizado, o equipamento foi operado como descrito no item 4.1.1 e o preenchimento da célula conforme o item 4.1.2. Considerou-se uma pressão constante de 100 bar, visto que a mesma não interfere no processo, pois os fluidos líquidos, em sua maioria, são substâncias incompressíveis. Uma vazão fixa de 3 mL.min⁻¹ foi adotada. Consideraram-se dois estágios de temperatura (70 e 90 °C; similar ao fluido supercrítico) e diferentes concentrações de solventes (Quadro 3).

Quadro 3. Parâmetros para extração com líquido pressurizado.

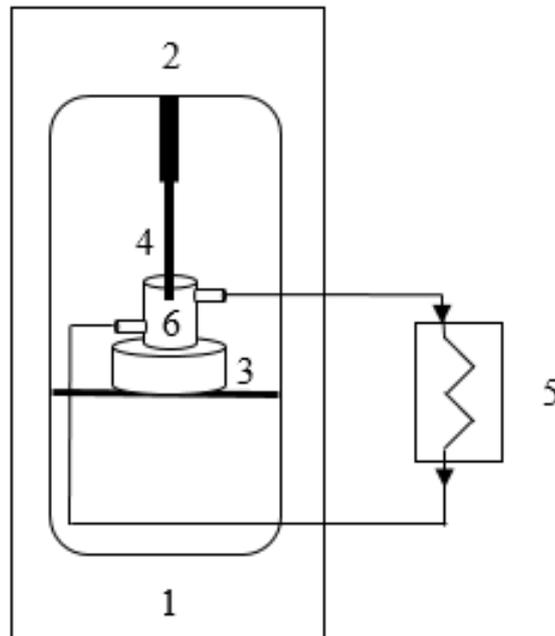
Identificação do ensaio	Temperatura (°C)	Concentração de solvente etanol-água (v/v)
ELP1	70	100:0
ELP2	70	70:30
ELP3	70	50:50
ELP4	90	100:0
ELP5	90	70:30
ELP6	90	50:50

Após transcorrido o tempo de cada extração, foram realizados os mesmos procedimentos de concentração e cálculos descritos no item 4.4.2, incluindo a análise do teor (equação 12).

4.5 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

As extrações assistidas por ultrassom também foram realizadas no LATESC/UFSC em um sonificador de ponteira ultrassônica (Figura 6).

Figura 6. Diagrama do sistema de extração por sonda ultrassônica.



Fonte: Autora (2020).

Onde:

- 1- Gabinete acústico;
- 2- Painel de controle;
- 3- Ajuste de altura;
- 4- Ponteira de titânio;
- 5- Banho termostático com capacidade máxima de 100 °C (Microquímica, MQBMP 99-20, Palhoça, Brasil);
- 6- Célula encamisada.

4.5.1 Descrição de funcionamento da unidade extratora

A unidade de extração assistida por ultrassom é composta pelo equipamento de geração de energia ultrassônica fabricado pela empresa Eco-sonics (São Paulo, BR), com frequência de 20 kHz e potência de 500 W. Este modelo é formado por um gabinete acústico

de aço inoxidável (1), um suporte para ajuste de altura (3), um painel de ajuste de tempo e potência (de 20 a 99% da potência total) (2), e uma ponteira (4) de 4 mm de diâmetro de onde são emitidas as ondas ultrassônicas.

A célula extratora, que é onde são emitidas as ondas ultrassônicas e adicionada a amostra com o solvente, foi desenvolvida pelo LATESC para permitir um ajuste de temperatura. É constituída de vidro e possui uma camada externa que é conectada a um banho termostaticado para controle da temperatura de extração.

Após a regulagem dos parâmetros do processo e inserção de amostra e solvente na célula, inicia-se a extração. Com o transcorrer do tempo, o sistema é desligado, o extrato peneirado (peneira de polipropileno com 7 cm de diâmetro) e centrifugado (Quimis, Modelo Q222T, SP, Brasil) a 4515 força G por 5 min. O sobrenadante é coletado em um frasco âmbar previamente pesado e identificado.

4.5.2 Cinética da extração assistida por ultrassom

O comportamento cinético durante o processo extrativo assistido por ultrassom foi realizado para determinar o tempo que maximiza o rendimento de espilantol. A temperatura foi definida com base nas duas metodologias anteriores. A potência foi ajustada para 80% da potência total (400 W) de modo que as partículas pudessem ser agitadas o suficiente para não causar perda de amostra e/ou solvente a partir da célula. Como solvente, considerou-se uma mistura etanol-água (50:50 v/v) e uma razão planta/solvente de 1:30, assim como na ELP.

Na sequência, realizou-se o procedimento descrito no item 4.5.1. À célula extratora, adicionou-se 30 mL de solvente e 1 g de flores de jambu. Esse processo foi realizado quatro vezes distintas, variando-se o tempo de aplicação da energia ultrassônica (5, 10, 20 30 min). Após esta etapa, os extratos foram coletados separadamente em frascos de vidro âmbar, aferidas as massas, rotaevaporados a 40 °C (FISATOM 801, São Paulo, Brasil) até completa evaporação do etanol e, finalmente, liofilizados (Liotop L 101, São Carlos, Brasil) por 48 h. Os frascos foram pesados novamente e calculado o rendimento de cada extrato (ver item 4.3.2).

O conteúdo dos frascos foi diluído em aproximadamente 3 g de etanol e armazenado a 6 °C. Para a análise no cromatógrafo, adotou-se o procedimento de preparo da amostra já descrito. Por fim, calculou-se o rendimento de espilantol (equação 11). Definiu-se 5 min como o tempo de extração.

Com os dados de massa de espilantol em relação ao tempo de extração, foi avaliado o ajuste dos modelos apresentados na seção 4.7.

4.5.3 Ensaio da extração assistida por ultrassom

O equipamento foi operado como descrito no item 4.5.1 e o preenchimento da célula conforme item 4.5.2. Como parâmetros constantes, definiu-se uma potência de 80% da potência total, razão planta/solvente de 1:30 e temperatura de 70 °C. A temperatura de 90 °C não foi considerada já que este parâmetro não afetou o rendimento do extrato e espilantol nas metodologias de extração anteriormente testadas. Em contrapartida, a concentração de solvente foi modificada como na ELP (Quadro 4).

Quadro 4. Parâmetros utilizados para a extração assistida por ultrassom.

Ensaio	Concentração de solvente
	etanol-água (v/v)
EAS1	100:0
EAS2	70:30
EAS3	50:50

Após os processos extrativos, foram realizados os mesmos procedimentos de concentração e cálculo descritos no item 4.5.2, incluindo a análise de teor (item 4.3.3).

4.6 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

A identificação do espilantol foi realizada a partir do padrão adquirido da empresa ChromaDex (Califórnia, EUA; pureza de 88,5%) e pela biblioteca NIST2011 do CG-EM. Para a quantificação, foi desenvolvida uma curva de calibração com o padrão mencionado, em diferentes concentrações e realizada a leitura por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG – EM) ou cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (CG – DIC).

4.6.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

A identificação do espilantol foi realizada na Central de Análises do Departamento de Engenharia Química e de Engenharia de Alimentos da UFSC. As análises de cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas GC-EM foram realizadas em um equipamento da marca Agilent GC 7890A acoplado com um detector de massas modelo Agilent 5975C do tipo triplo quadrupolo e um injetor automático Agilent modelo GC sampler 80. A coluna capilar de sílica fundida HP-5MS composta por 5% de fenila e 95% de metilpolisiloxano (30 m × 250 µm de diâmetro interno; espessura, 0,25µm; Agilent-J & W Scientific) foi conectada a fonte de ionização do tipo Impacto de elétrons operando em modo positivo a 70 eV. Faixa de varredura 40-550 m/z. Hélio foi usado como gás de arraste e fluxo constante de 1 mL min⁻¹.

A temperatura do injetor (modo split 1:50) e da interface foram de 270 °C e 280 °C, respectivamente.

Para as análises, utilizou-se a metodologia de Costa (2014). Uma alíquota de cada extrato foi primeiramente diluída em etanol, seguido de injeções automáticas de 1 µL. A temperatura inicial do forno foi de 70 °C, a qual foi mantida durante 3 min, aumentada a uma taxa de 10 °C.min⁻¹ até 270 °C e mantida por 3 min, com um tempo total de análise de 26 min. A identificação do espilantol foi realizada através da comparação dos espectros de massa com o espectro obtido a partir do padrão e dos dados da biblioteca de espectros *Mass Spectral Search Program* do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST). Para a quantificação, preparou-se uma curva de calibração do padrão adquirido da empresa ChromaDex considerando-se as concentrações de 1,3; 1,0; 0,7; 0,3; 0,12 e 0,06 mg.g⁻¹ (diluição em etanol).

4.6.2 Cromatografia gasosa com Detector por Ionização de Chama (CG – DIC)

Como o CG-EM estragou durante o período das análises, nova metodologia de CG-DIC (Agilent Technologies, EUA) foi considerada para a quantificação do espilantol. Trata-se de equipamento modelo CG 7890A acoplado ao detector de ionização de chama (DIC). Nova curva de calibração foi obtida nas condições já descritas no item 4.6.1.

Para as análises, utilizou-se a metodologia de Costa (2014) descrita no item 4.6.1.

4.7 MODELOS MATEMÁTICOS APLICADOS AS CINÉTICAS

O uso de modelos matemáticos nas curvas cinéticas de extração foi utilizado para prever e interpolar os dados experimentais. A partir da definição de parâmetros ajustáveis a estes dados, é possível simular este mesmo processo em outras escalas. Assim, diferentes modelos foram considerados para representar os dados cinéticos tanto para o extrato, bem como para o composto espilantol, de modo a definir qual possibilita um melhor ajuste.

4.7.1 Modelo de Gaspar

O modelo proposto por Gaspar et al. (2003) é chamado de modelo de placas já que é caracterizado por uma transferência de massa, de forma análoga à transferência de calor, onde partículas sólidas são consideradas placas. A massa de extrato obtida ao longo do tempo é representada pela equação 13 (GASPAR et al., 2003) com modificação proposta por Campos et al. (2005).

$$m_{ext} = \left[1 - \sum_0^{\infty} \frac{0,8}{(2n+1)^2} \exp\left(\frac{D_m(2n+1)^2\pi^2 t}{\delta^2}\right) \right] \quad (13)$$

Onde: m_{ext} é a massa de extrato (g), para as cinéticas de extrato, e massa de espilantol (mg), para as cinéticas de espilantol, m_0 é a quantidade inicial de extrato ou espilantol na fase sólida (g/mg), δ é a espessura das partículas (placas) (μ), n é um número inteiro, e D_m representa a difusividade na matriz sólida (μ^2/min) e é o único parâmetro ajustável da equação.

4.7.2 Modelo de Martínez

O modelo proposto por Martínez et al. (2003) é obtido a partir de um modelo logístico aplicado a sistemas multicomponentes. Para o processo de transferência de massa, considera o extrato como um pseudocomponente ou uma mistura de substâncias ou grupos de componentes similares, desconsiderando o acúmulo e a dispersão que pode ocorrer em processos com fase fluida.

A equação que representa a curva de extração obtida por Martínez é apresentada abaixo, onde “ h ” é a coordenada axial (m), “ H ” comprimento do leito (m), “ t ” é o tempo do processo,

“ m_0 ” é a massa de soluto (g para extrato e mg para espilantol), “ b ” e “ t_m ” são parâmetros ajustáveis do modelo.

$$m_{ext}(h = H, t) = \frac{m_0}{\exp(bt_m)} \left\{ \frac{1 + \exp(bt_m)}{1 + \exp[b(t_m - t)]} - 1 \right\} \quad (14)$$

4.7.3 Modelo de Martínez modificado

Ao aplicar o modelo de Martínez et al. (2003), um novo parâmetro foi incluído no processo com o objetivo de flexibilizar o ajuste dos dados. Este procedimento foi realizado avaliando o comportamento de cada parâmetro, sendo que o termo “-1” ao final da equação de Martínez et al. (2003) (Equação 13) tem a finalidade de zerar o termo que está entre chaves, quando o tempo é zero, fazendo com que não tenha massa de extração neste tempo ($m_{ext} = 0$).

Analisando os comportamentos da curva com a alteração do valor de cada parâmetro, identificou-se que “ b ” controla o ponto de inflexão da curva e que, ao modificá-lo na equação, mudaria o comportamento. A partir disto, substituiu-se “ b ” em uma das posições pelo parâmetro “ c ” para um melhor ajuste dos dados. A equação foi reorganizada para que o termo entre chaves permanecesse igual a zero no tempo zero, obtendo a equação abaixo como resposta, na qual os termos permanecem com a mesma identificação, acrescido do parâmetro ajustável “ c ”.

$$m_{ext} = \frac{m_0}{\exp(bt_m)} \left\{ \frac{1 + \exp(bt_m)}{1 + \exp[c(t_m - t)]} - \frac{1 + \exp(bt_m)}{1 + \exp(ct_m)} \right\} \quad (15)$$

4.7.4 Modelo logarítmico (empírico)

Dentre os modelos matemáticos, o modelo logarítmico (equação 16) com três parâmetros ajustáveis “ a ”, “ b ” e “ c ” apresentou bom ajuste, contudo, seus parâmetros ainda não têm significado físico definido.

$$m_{ext} = a - b \cdot \ln(t + c) \quad (16)$$

Onde: “ m_{ext} ” é a massa acumulada; “ t ” é o tempo; e, “ a ”, “ b ” e “ c ” são parâmetros ajustáveis.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O software R versão 4.0 foi utilizado no tratamento estatístico a fim de identificar diferenças entre os resultados de rendimento obtidos para os diferentes métodos de extração. Após a análise de variância, realizou-se o teste de Tukey para comparação dos valores médios. Um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) foi aplicado.

O Erro Médio Quadrático (EMQ) foi utilizado com a finalidade de analisar a proximidade dos modelos matemáticos aos dados experimentais. Outros valores considerados para esta avaliação foram o Critério de Informação de Akaike (AIC) e o Critério de Informação de Bayesiano (BIC). Conforme o modelo, estes critérios penalizam o uso de um maior número de parâmetros já que isto aumenta a flexibilidade do ajuste. O coeficiente de determinação (R^2) foi calculado apenas para comparação, visto que, ele não é adequado à modelos não-lineares.

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 FLORES DE JAMBU

5.1.1 Caracterização da matéria prima

Ainda que as flores de jambu tivessem sido adquiridas na forma desidratada, a umidade do ambiente pode migrar para a amostra e, desta forma, este parâmetro foi determinado por um método gravimétrico farmacopeico. O valor médio de umidade obtido para as flores de jambu desidratada foi de 19,22%. Oliveira et al. (2014) ao avaliar o processo de desidratação do jambu, encontrou um valor de 8,83% de umidade para a planta desidratada. Já Silva (2015), ao avaliar o jambu *in natura* e seco, identificou valores de umidade de 89,92% e 9,52%, respectivamente.

O valor de umidade encontrado neste trabalho é considerado acima do padrão (até 12% de umidade) estabelecido pela Anvisa (RDC nº 272/2005) para vegetais desidratados, e pode estar relacionado a alta umidade relativa do ar da cidade de Florianópolis-SC, de 85% anual (CPETC/INPE, 2021). Em comparação a outros estados, Santa Catarina (SC) é o terceiro estado com maior umidade relativa de ar do Brasil.

O diâmetro médio de partículas obtido foi de 0,2730 mm (Tabela 1), similarmente ao encontrado por Cavalcanti (2008) e Dias et al (2017), que foi de 0,28 e 0,29 mm, respectivamente. Cavalcanti (2008) também obteve partículas com um diâmetro de 0,5 mm,

porém, o rendimento de espilantol foi quase 50 % menor comparativamente as partículas de 0,28 mm.

Tabela 1. Caracterização física das flores de jambu.

Parâmetro avaliado	Valor
Umidade (%)	19,22 ± 0,31
Diâmetro médio (mm)	0,27 ± 0,30
Massa específica aparente (g.cm ⁻³)	0,18 ± 0,10
Massa específica real (g.cm ⁻³)	1,47 ± 0,01
Porosidade do leito (%)	87,25 ± 0,01

A alteração no rendimento de acordo com o tamanho é explicada devido ao aumento da área superficial e da disponibilidade de soluto, nas partículas menores, facilitando a transferência de massa e diminuindo, conseqüentemente, o tempo de extração. Contudo, diâmetros muito pequenos podem ocasionar a compactação do leito e a formação de caminhos preferenciais, o que leva a uma redução do rendimento no processo extrativo (SOVOVÁ et al., 1994; CAVALCANTI, 2008; BENELLI, 2014; SILVA, 2018).

Neste estudo, foi possível verificar, visivelmente, que não houve compactação do leito, pois após extração, a matriz vegetal apresentava coloração uniforme. Isto pode também sofrer influência da porosidade do leito, que auxilia no processo de percolação do solvente, facilitando o acesso às partículas sólidas. Os valores dos parâmetros para cálculo desta porosidade (massa específica aparente e real) foram equivalentes aos encontrados na literatura (DIAS et al., 2017; SILVA, 2018). A porosidade do leito foi de 87 % (Tabela 1), similar ao encontrado por Silva (2018).

5.2 QUANTIFICAÇÃO DE ESPILANTOL NO CG-EM

Para quantificar o espilantol nos extratos obtidos, construiu-se uma curva de calibração com um padrão analítico de referência (Figura 7), como já descrito no item 4.6. A equação da reta que relacionou a área do pico (y) à concentração de espilantol (x) foi $y = 6,9334.10^7x - 5,6275.10^6$. Obteve-se um coeficiente de determinação de 0,9968, o que sugere uma relação linear entre concentração e sinal analítico na faixa selecionada. Como este valor é superior a 0,99, pode-se afirmar que o método em questão atende ao recomendado nos guias de validação

da ANVISA e ICH. No cromatograma aqui selecionado (Figura 8), pode-se observar que o espilantol apresentou um tempo de retenção de 17,5 min, com uma taxa de similaridade de 90 % ao analisar a biblioteca NIST2011. Costa (2014), ao utilizar condições analíticas similares, encontrou um tempo de retenção semelhante, que foi de 17,7 min.

Figura 7. Curva de calibração de espilantol obtida por CG-EM.

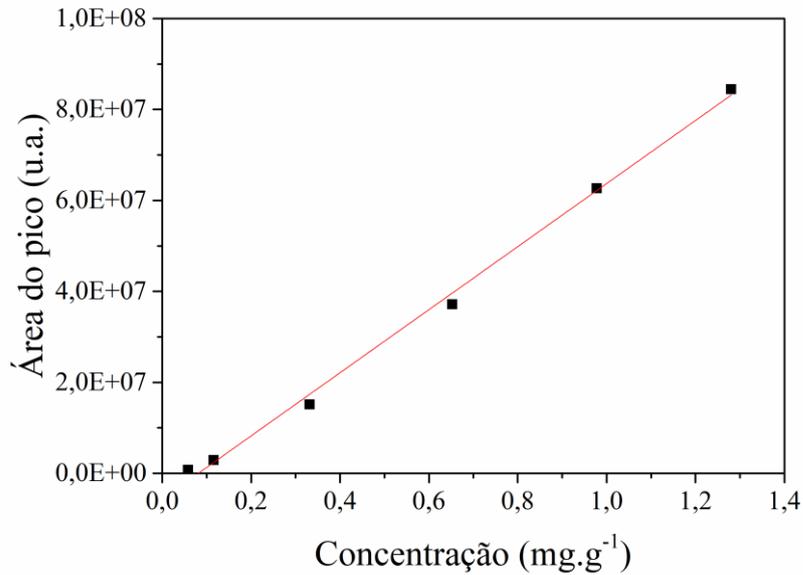
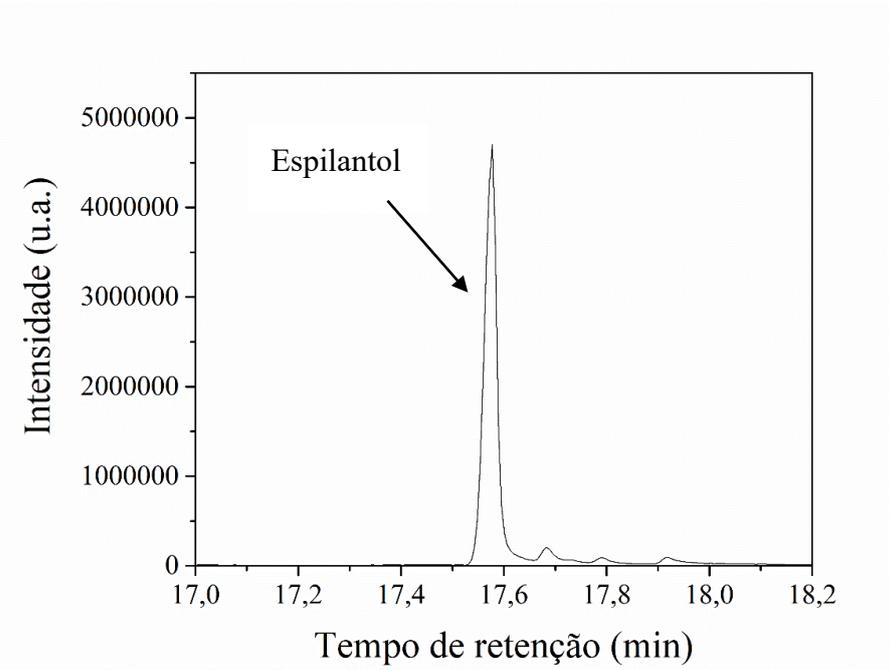


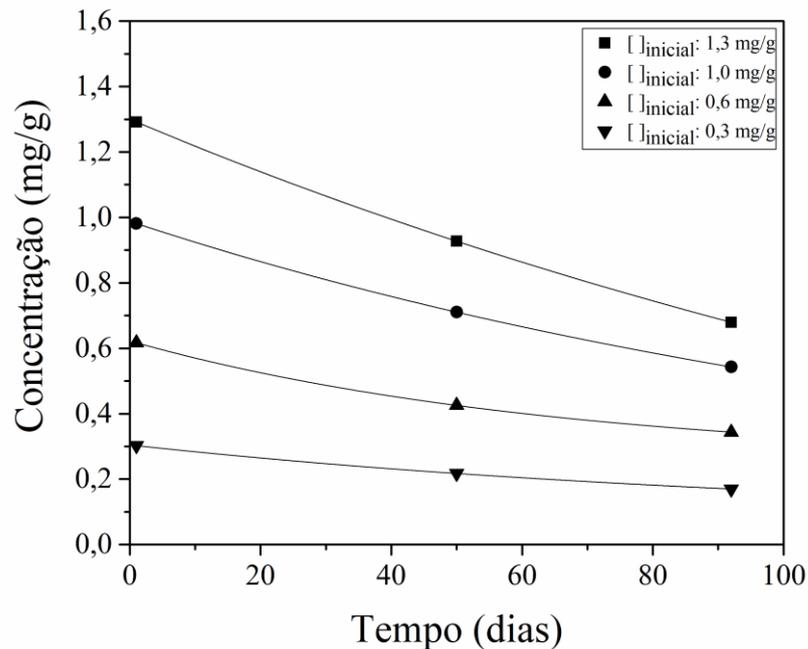
Figura 8. Exemplo de cromatograma obtido após injeção de 1,3 mg.g⁻¹ de espilantol.



5.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO ESPILANTOL

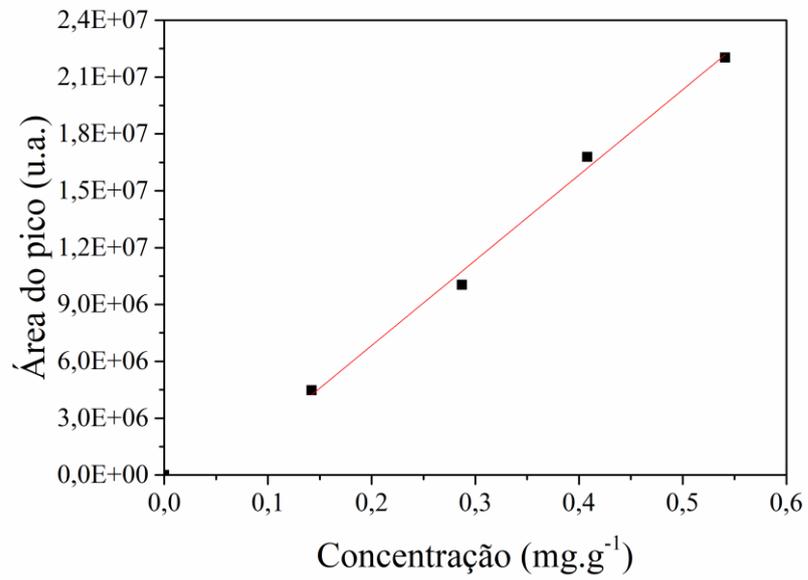
Soluções etanólicas contendo espilantol foram monitoradas quanto a estabilidade, 50 e 92 dias após armazenamento em geladeira a 6 °C (Figura 9).

Figura 9. Teor de espilantol após 50 e 92 dias de armazenamento a 6 °C. Cada curva representa uma solução com diferente concentração de espilantol. Etanol foi utilizado como meio reacional.



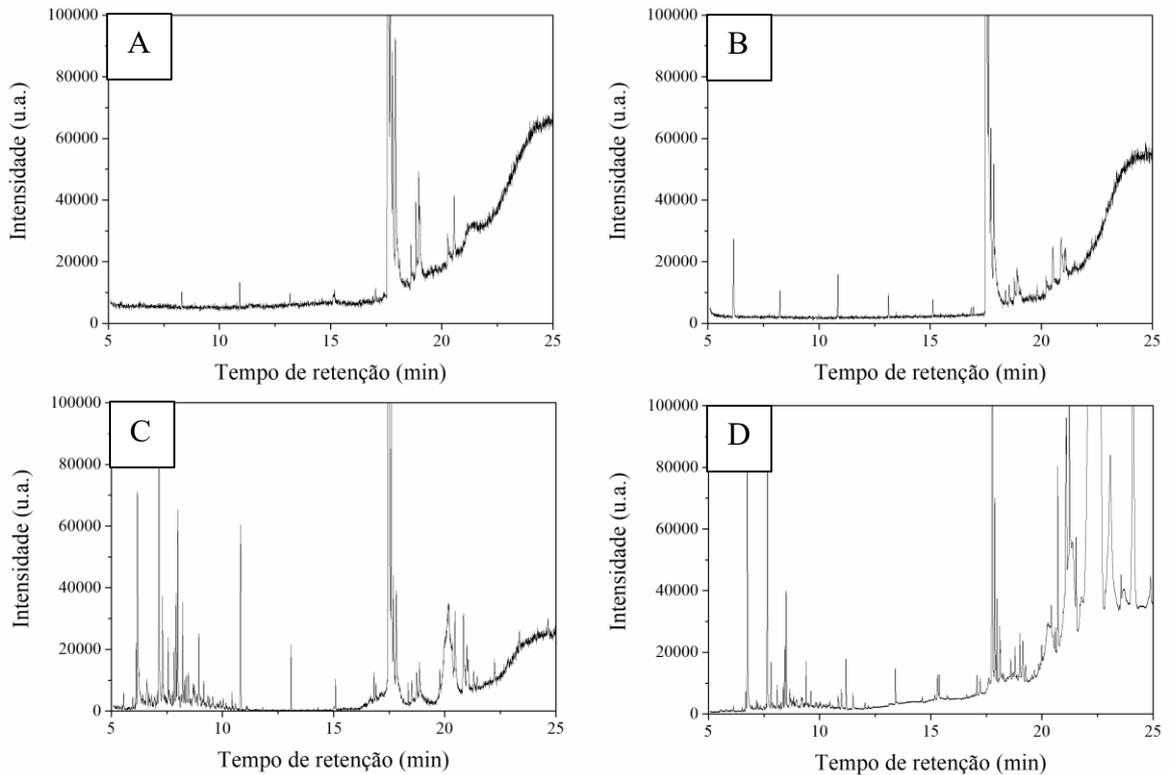
Aos dados observados foi ajustado um modelo para descrever o comportamento do decaimento da concentração em função do tempo. Para isso, o modelo que melhor representou esses dados foi o de decaimento exponencial ($y = a.e^{-b.x}$), onde “a” representa a concentração inicial, “y” a concentração em função do tempo, “x” o tempo, e “b” a taxa de decaimento. Encontrou-se então, como taxa de degradação média de espilantol o valor de $0,0065 \pm 0,0006$ mg.dia⁻¹ e estimou-se a concentração deste composto no dia 126. Esta simulação foi necessária devido a um problema de funcionamento no equipamento CG-EM e a necessidade de obtenção de uma nova curva de calibração no CG-DIC. Após a leitura dos pontos no CG-DIC, foi obtida nova curva de calibração (Figura 10) e equação da reta ($y = 4,4986.10^7x - 2,1653.10^6$, onde “y” representa a área do pico e “x” a concentração de espilantol). O tempo de retenção do composto no novo equipamento foi 17,7 min e o coeficiente de determinação da reta foi 0,9946.

Figura 10. Curva de calibração obtida por CG-DIC.



A análise dos cromatogramas também sugeriu degradação do composto (Figura 11). O quadrante “A” refere-se ao primeiro dia de diluição do composto no solvente e os quadrantes “B”, “C” e “D” referem-se ao 50°, 92° e 126° dia de armazenamento.

Figura 11. Cromatogramas de solução etanólica de espilantol ($1,3 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) após (A) 1, (B) 50, (C) 92 e (D) 126 dias de armazenagem a $6 \text{ }^\circ\text{C}$.



A partir do primeiro espectro (Figura 11A), pode-se observar a presença de outros compostos e o aumento na concentração dos mesmos em função do tempo de armazenagem. Além disto, foi observada uma redução da concentração do espilantol, que possivelmente foi convertido em dioxiacmellamida (SILVEIRA, 2017) após oxidação e na presença de luz. Segundo Silveira (2017), essa conversão ocorre por uma modificação estrutural na porção dieno (6Z, 8E). Blanco (2018b) também avaliou o teor de espilantol em bioadesivos e identificou uma redução significativa após 120 dias de armazenamento a $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Por outro lado, Silveira et al (2017) observou que o composto se mantém estável em solução metanólica, a temperatura ambiente, por até 72 dias. Ao armazenar o extrato etanólico (75%) de jambu a temperatura ambiente, por 6 meses, Bae et al. (2010) detectaram uma redução na concentração de espilantol de somente 10%. Este resultado não foi observado neste trabalho para o padrão comercial mesmo após uma armazenagem em etanol a $6 \text{ }^\circ\text{C}$. Com isso, decidiu-se avaliar os extratos em meio etanólico obtidos neste estudo por EFS, ELP e EAU, afim de analisar se algum composto do extrato influencia diretamente na estabilidade do espilantol.

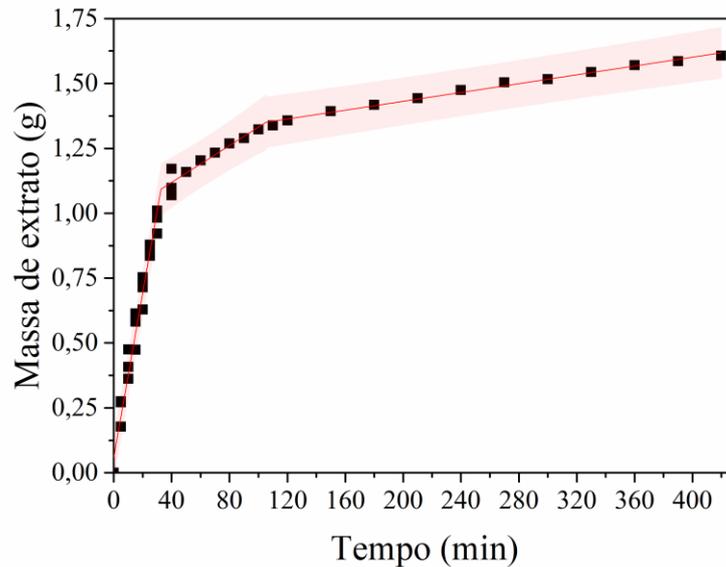
Para os extratos por EFS, a taxa média de degradação em um período de aproximadamente 6 meses foi de $0,005 \pm 0,003 \text{ mg.dia}^{-1}$, reduzindo cerca de $60 \pm 20\%$ da concentração inicial de espilantol. Para os extratos por ELP, a degradação foi avaliada por 5 meses, a uma taxa média de $0,007 \pm 0,004 \text{ mg.dia}^{-1}$, reduzindo cerca de $50 \pm 20\%$ da concentração inicial de espilantol. Já para os extratos por EAU, a taxa média de degradação por 4 meses foi $0,004 \pm 0,003 \text{ mg.dia}^{-1}$, reduzindo cerca de $30 \pm 20\%$ da concentração inicial de espilantol. Esta taxa dos extratos por EAU foi menor quando comparada a degradação das demais técnicas de extração avaliadas. A diferença entre o intervalo de avaliação da taxa de degradação (meses) se deve ao dia de realização das extrações de cada processo extrativo.

Pela influência de fatores externos (temperatura, posição dos frascos no refrigerador, queda de energia e danificação do refrigerador), a taxa de degradação oscilou bastante, o que explica o alto desvio e as diferenças entre cada método de extração. Ao avaliar a fotoestabilidade de um extrato comercial hidroglicólico (propanodial/água) das partes aéreas de jambu, Savic et al. (2021) sugeriram a presença de dois compostos resultantes da oxidação de espilantol, o isobutil-amida do ácido 6,9-di-hidroxi-deca-2,7-dienóico e isobutil-amida do ácido 8,9-di-hidroxi-deca-2,6-dienóico-amida. Silveira (2017), por sua vez, encontraram a dioxiacmellamida como produto da oxidação do espilantol. Estes produtos da degradação citados acima não foram identificados dentre os compostos apontados neste trabalho para os extratos por EFS, ELP e EAU. Possivelmente, isto ocorreu pelo uso de diferentes metodologias de identificação, Savic et al. (2021), por exemplo, utilizou UHPLC; e, Silveira (2017) RMN.

5.4 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO

Na análise cinética (Figura 12), obteve-se uma quantidade máxima de extrato próximo a 7 h, que foi de 1,61 g. A quantidade máxima de espilantol (1,36 mg), por sua vez, foi alcançada em 40 min.

Figura 12. Cinética de extração com fluido supercrítico a 70 °C, 250 bar e 0,5 Kg.h⁻¹ ajustada pelo modelo de regressão linear por partes.



Na figura 12, são também apresentadas as três retas ajustadas que representam as etapas de extração e, na tabela 2, os parâmetros t_{CER} e as taxas de extração ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$). O valor de t_{CER} , que expressa o tempo final da etapa de extração constante (CER), foi de 32,62 min. A taxa de extração neste período, que representa a transferência de massa convectiva do soluto presente na superfície da matriz vegetal, foi de $0,03 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$. Em percentual, esta taxa seria de 61,25% do extrato total. Neste mesmo tempo, inicia a etapa de extração decrescente (FER), causada pela combinação de processos convectivos e difusivos a uma taxa de $0,0035 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$, visivelmente inferior a anterior. Já a última etapa, que é o período difusional, tem início no tempo de 105,30 min, a $8,50\cdot 10^{-4} \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$. Trata-se da etapa mais lenta, por ser marcada pela obtenção do soluto de difícil acesso.

Tabela 2. Parâmetros do modelo de regressão linear por partes aplicado a EFS.

Parâmetros	Valores
a_1 (g)	0,06
k_1 ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)	0,03
t_{CER} (min)	32,62
k_2 ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)	0,01
t_{FER} (min)	105,30

k_3 (g.min ⁻¹)	$8,51.10^{-4}$
R^2	0,99

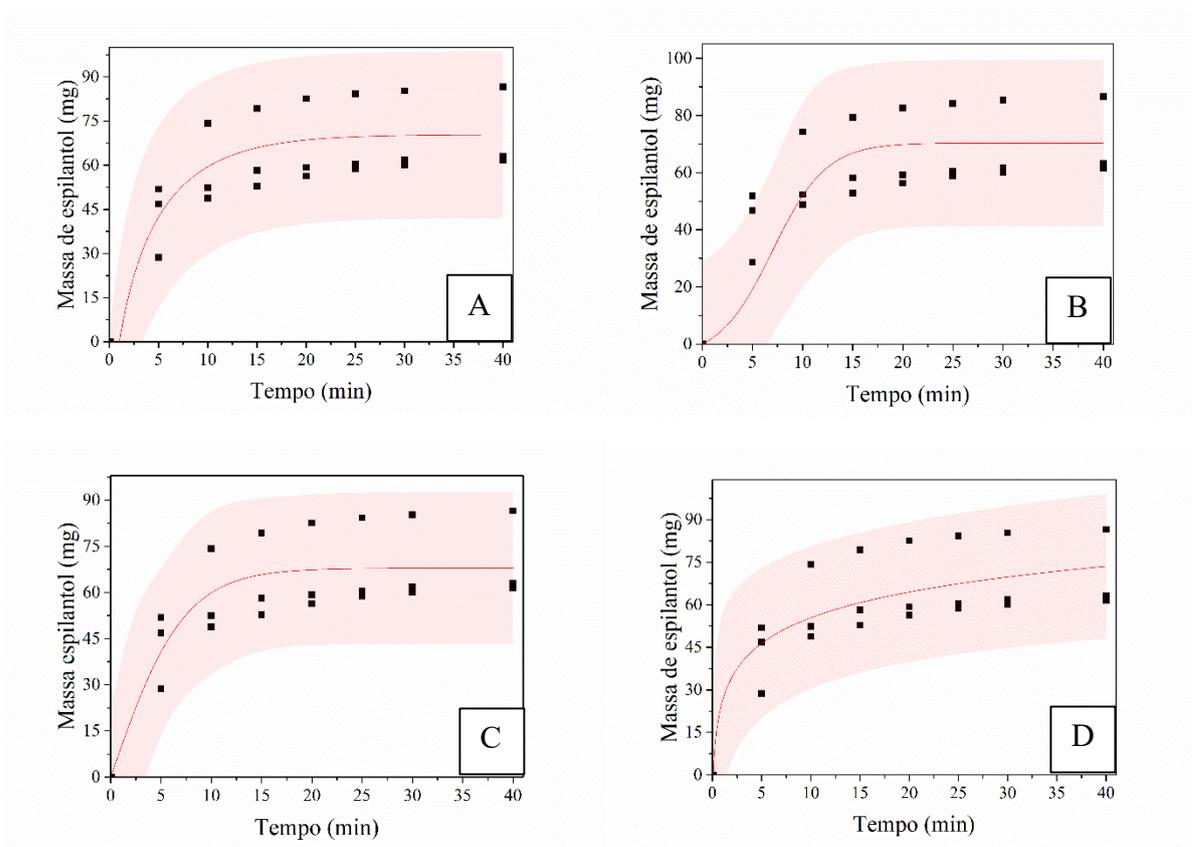
Os dados da massa de espilantol em relação ao tempo foram ajustados por quatro modelos matemáticos (seção 4.7). A partir do modelo de Gaspar (Figura 13-A), encontrou-se um coeficiente de difusividade de $36,92 \mu\text{m}^2.\text{min}^{-1}$. Este valor é similar ao encontrado por Biscaia (2007), que preparou um extrato de própolis por tecnologia supercrítica.

O modelo logístico (Figura 13-B) de Martínez mostrou melhor ajuste em relação ao modelo proposto por Sovová (1994) em estudo de extração de oleoresina de gengibre por tecnologia supercrítica. O parâmetro ajustável “ t_m ” (Tabela 3) representa o tempo em que a taxa de extração é máxima e seu valor próximo a zero indica que a taxa de extração é decrescente, tendo seu valor máximo no instante inicial. No processo de extração com fluido supercrítico aqui considerado, a taxa de extração na primeira etapa também foi maior do que nas etapas seguintes. Já o parâmetro “ b ” é apenas um parâmetro ajustável, sem significado físico até o momento.

Quando mais um parâmetro ajustável foi incluído no modelo de Martínez (Figura 13-C), o termo “ t_m ” com valor próximo a zero segue com o mesmo significado físico do modelo original, assim como “ b ”.

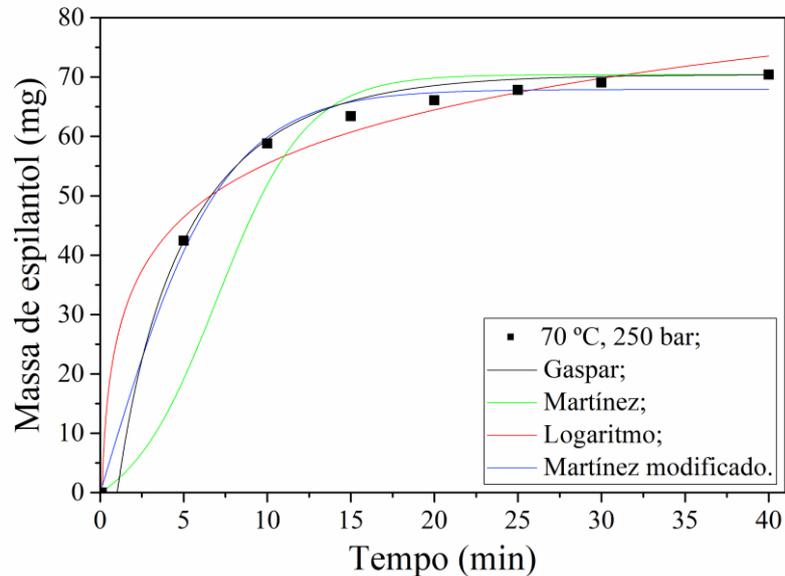
O modelo logarítmico (Figura 13-D), que é representado pelos parâmetros “ a ”, “ b ” e “ c ” (Tabela 3), mostrou que “ b ” afeta significativamente o rendimento de espilantol bem como o comportamento extrativo do processo (b negativo). À medida que “ c ” aumenta, a curvatura da função diminui e os dados se aproximam de um sistema linear. O parâmetro “ a ”, define o valor próximo ao intercepto no eixo y , pois quando $t=0$, $m_{\text{ext}}=a-b\ln(c)$.

Figura 13. Cinética de espilantol a 70 °C, 250 bar e 0,5 Kg.h⁻¹ ajustada pelo modelo de Gaspar (A), modelo logístico de Martínez (B), modelo de Martínez modificado (C) e modelo logaritmo (D).



A maior quantidade de espilantol foi transferida da planta para o meio reacional ainda na etapa convectiva, sugerindo que o composto apresenta uma distribuição preferencial na superfície. Obteve-se cerca de 93,8% da massa total aos 20 min. Neste mesmo tempo, a 95% de probabilidade, observa-se que a quantidade de espilantol, a 70 °C, 250 bar e 0,5 Kg.h⁻¹, pode variar de 40,08 a 97,03 mg aplicando o modelo de Gaspar, 45,93 a 92,98 mg pelo modelo de Martínez, 42,89 a 91,84 mg pelo modelo modificado de Martínez, e 39,83 a 89,13 mg pelo modelo logaritmo.

O ajuste dos modelos aos valores médios de massa de espilantol em função do tempo são apresentados na figura abaixo.

Figura 14. Modelos aplicados a curva cinética de espilantol por EFS a 70 °C e 250 bar.

Dentre os modelos aplicados, foi avaliado o Erro Médio Quadrático (EMQ), o Critério de Informação de Akaike (AIC) e o Critério Bayesiano de Schwarz (BIC) (Tabela 3) para definir o modelo que melhor se ajusta aos dados experimentais. Os menores valores destes critérios indicam que o modelo que mais se aproxima do real, ou seja, que melhor representa os dados para identificação da quantidade de espilantol presente no extrato por EFS foi o proposto por Martínez. O coeficiente de determinação, por sua vez, representa o quanto o modelo explica a variação da massa de espilantol em função do tempo. Para o modelo de Martínez, encontrou-se um valor de 80,77%.

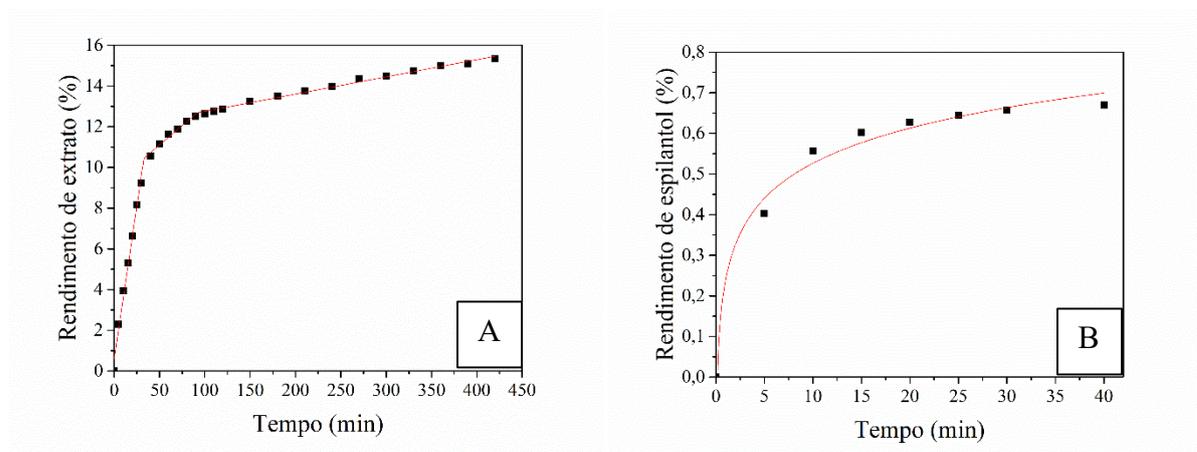
Tabela 3. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de espilantol por EFS.

Gaspar		Martínez		Martínez modificado		Logaritmo	
P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor
D _m	36,92	t _m	6,16.10 ⁻¹³	t _m	0,01	a	25,17
-	-	b	0,25	B	31,59	b	-13,11
-	-	-	-	C	0,28	c	0,05
R ²	0,70	R ²	0,81	R ²	0,81	R ²	0,81
EMQ	13,69	EMQ	11,31	EMQ	11,42	EMQ	11,57
AIC	129,17	AIC	121,54	AIC	123,78	AIC	124,41
BIC	130,95	BIC	123,88	BIC	126,39	BIC	127,02

*Abreviação de parâmetro.

Em relação ao rendimento (massa de extrato/sólido seco), o extrato (Figura 15A) apresentou 15,35% de rendimento máximo durante as 7 h de extração. Já o espilantol (Figura 15B) mostrou rendimento máximo de 0,67 e 0,63% aos 40 e 20 min, respectivamente. Assim, o tempo de 20 min foi selecionado como tempo de extração já que não há ganhos significativos na quantidade de espilantol extraída entre 20 e 40 min.

Figura 15. Cinética do rendimento de extrato (A) e do espilantol (B) em fluido supercrítico a 70 °C, 250 bar e 0,5 Kg.h⁻¹.



Não houve diferença estatística significativa entre os rendimentos de espilantol para variações de temperatura (70 e 90 °C) e pressão (250 e 300 bar). Assim, o uso de 70 °C e 250 bar é viável devido ao menor custo energético e alto rendimento (0,55 % ± 0,08; Tabela 4). Este resultado difere do encontrado por Dias et al (2017), cujo rendimento variou entre 1,6 e 2,6 % para esta mesma temperatura e pressões entre 220 e 490 bar. Ainda, as condições que proporcionaram um maior rendimento foram 70 °C e 320 bar, com 2,6 % ± 0,09. A condição que mais se aproximou do rendimento encontrado neste estudo foi a que utilizou 50 °C e 220 bar, cujo rendimento foi de 0,57 % ± 0,02.

Apesar das divergências com o estudo de Dias et al (2017), os rendimentos aqui obtidos para o extrato foram similares aqueles de Barbosa et al (2016d), Blanco et al (2019) e Cavalcanti (2008). Fatores tais como solo do plantio, tempo de estocagem, processo de pós-colheita e clima também podem afetar o rendimento do extrato e devem ser cuidadosamente analisados.

Outro aspecto importante apresentado por Cavalcanti (2008) é a influência do diâmetro de partícula no rendimento de espilantol. Partículas com diâmetros de 0,28 e 0,5 mm

apresentaram rendimentos de 0,43 e 0,27 %, respectivamente, uma diferença de quase 50 %. Os demais estudos citados (Dias et al, 2017; Barbosa et al, 2016d; Blanco et al., 2018a) utilizaram a mesma granulometria e obtiveram rendimentos variados. Barbosa et al (2016d) obteve dados semelhantes ao estudo aqui desenvolvido. Dias et al (2017), por sua vez, encontrou um rendimento maior e Blanco et al (2017a) um pouco mais baixo. Assim, a análise de outras variáveis deve também ser considerada.

Dias et al (2017) atribuiu o alto rendimento de espilantol à densidade do solvente. Densidades próximas a 800 Kg.m^{-3} resultaram em um rendimento 4,5 vezes maior. O aumento da temperatura também impactou positivamente já que aumentou a solubilidade do composto no solvente. Em contrapartida, Cavalcanti (2008) afirma que densidades maiores que 750 Kg.m^{-3} não favorecem a extração do composto por conta da competição entre os solutos. Já neste trabalho, não foi encontrado diferenças no rendimento de espilantol variando-se as densidades entre 636 e 787 Kg.m^{-3} .

Um ponto positivo do estudo aqui desenvolvido em relação aos demais é o tempo de extração, que foi de apenas 20 min. Nos outros trabalhos citados, rendimentos semelhantes foram alcançados com um tempo de extração entre 120 e 190 min, o que aumenta o custo energético do processo e gastos de fluido refrigerante. Quando comparado ao estudo de Barbosa et al. (2016d), que obteve um rendimento mais próximo, a razão vazão de CO_2 /tempo de extração foi até 20 vezes menor neste estudo.

Tabela 4. Rendimento de espilantol e teor para as condições de extração avaliadas.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Densidade do CO_2 (Kg.m^{-3})	Rendimento de espilantol (%) ⁽¹⁾	Teor de espilantol (%)
70	250	736,92	$0,55 \pm 0,12$	8,28
	300	787,97	$0,63 \pm 0,21$	6,36
90	250	636,12	$0,63 \pm 0,20$	11,36
	300	703,27	$0,63 \pm 0,19$	6,96

⁽¹⁾média \pm desvio padrão; não houve diferença estatística significativa no rendimento de espilantol quando temperatura e pressão foram modificados ($p > 0,05$; ANOVA/Tukey).

Em relação ao teor, que representa a quantidade de espilantol no extrato, houve uma maior concentração para densidades mais baixas. Como mencionado por Cavalcanti (2008), isto pode ser explicado pela solubilidade do solvente e a competição entre os solutos em

densidades maiores, o que favorece a extração de outros compostos. Na tabela 5, pode-se observar que a maior parte dos compostos identificados a 70 °C e 300 bar (condição com menor teor e maior densidade) possuem maior porcentagem de área no espectro quando comparada as demais condições de processo, além de apresentar a menor porcentagem de área de espilantol.

Ainda, esta tabela apresenta onze compostos identificados no extrato por EFS nas diferentes condições avaliadas de temperatura e pressão. O principal composto é o espilantol, seguido do ácido linoleico (7), ácido palmítico (5), epi-biciclosesquifelandreno (2) e cariofileno (1). Barbosa (2016a), em estudo com óleo de todas as partes do jambu seco obtido por Bligh e Dyer (1959) e analisado por CG-EM, encontrou alguns destes ácidos graxos como o ácido palmítico (5) e ácido linoleico (7,8), bem como ácido esteárico (9). Quando este mesmo autor preparou extratos com CO₂ supercrítico de todas as partes do jambu, espilantol foi identificado como composto majoritário, seguido do homospilantol (encontrado neste trabalho nos extratos por ELP e EAU), esqualeno, acetato de lupelila (11) e óxido de cariofileno (encontrado neste trabalho, mas não descrito devido à baixa concentração).

Ao avaliar o óleo essencial de todas as partes do jambu por CG-EM, Martin e Becker (1985) identificaram quatorze alcalamidas, alguns sesquiterpenos, como o cariofileno (1) e o humuleno (encontrado neste trabalho, porém, não descrito devido à baixa concentração), bem como compostos fenólicos como ácido 1,3-dicafeoil-epicatequínico e miquelianina (não identificados no extrato avaliado). Ao analisar o extrato hexânico das partes aéreas da planta por CG-EM, Lalthanpui e Laclchandama (2020) identificaram o acetato de (3β)-lup-20(29)-en-3-ol como um dos compostos majoritários. Nascimento et al (2020), por sua vez, analisaram o extrato etanólico de todas as partes do jambu por CLAE-EM e identificaram compostos pertencentes a classe dos açúcares, ácidos fenólicos, flavonoides, alcalamidas e alguns ácidos graxos não identificados neste trabalho. As diferenças de perfil químico de extratos analisados por CLAE-EM e CG-EM podem estar relacionadas com o princípio de cada técnica. Enquanto que CLAE-EM separa os compostos por diferença de polaridade, CG-EM se restringe a compostos de alta volatilidade.

Tabela 5. Compostos identificados nos extratos obtidos por CO₂ supercrítico.

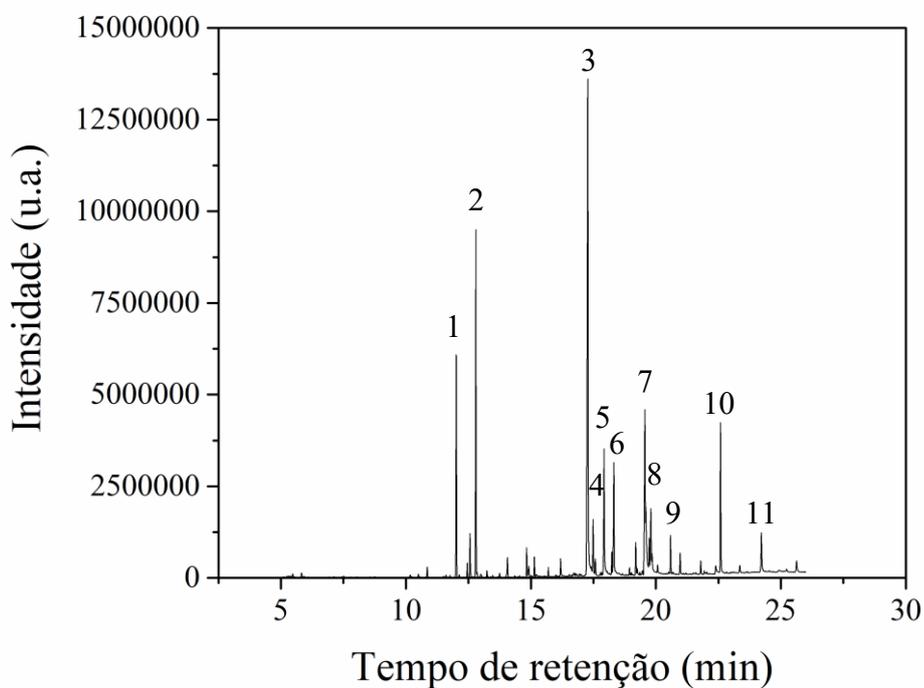
ID	tr (min)	% de área no espectro				Composto
		70 °C - 250 bar	90 °C - 250 bar	70 °C - 300 bar	90 °C - 300 bar	
1	12,02	3,56	2,18	7,27	6,82	Cariofileno
2	12,80	5,86	4,00	11,48	6,81	Epi-biciclosesquifelandreno
3	17,27	52,15	35,74	28,89	38,67	Espilantol

4	17,49	2,28	1,68	2,20	1,77	Ácido carboxílico-3-ciclohexano
5	17,93	5,08	6,19	5,97	5,17	Ácido hexadecanoico
6	18,32	5,48	4,48	5,01	4,15	1-etenil ciclohexano
7	19,56	7,52	7,81	7,77	7,40	Ácido 9,12 (Z,Z) octadecadienoico
8	19,60	3,66	3,32	4,22	3,52	Ácido 9,12 (Z,Z) octadecadienoico
9	19,80	2,46	1,67	3,01	1,86	Ácido octadecanoico
10	22,58	2,09	1,26	5,06	1,90	Eicosane
11	24,22	0,30	2,06	2,06	2,60	Acetato de (3 β)-lup-20(29)-en-3-ol

t_r : tempo de retenção (min).

Os compostos acima listados foram identificados com base na biblioteca NIST e estão apresentados na figura 16, porém, outras metodologias mais confiáveis deveriam ser utilizadas para a confirmação da identidade dos mesmos (ex.: técnicas espectroscópicas; ressonância magnética nuclear).

Figura 16. Cromatograma do extrato obtido por CO₂ supercrítico a 70 °C e 300 bar.

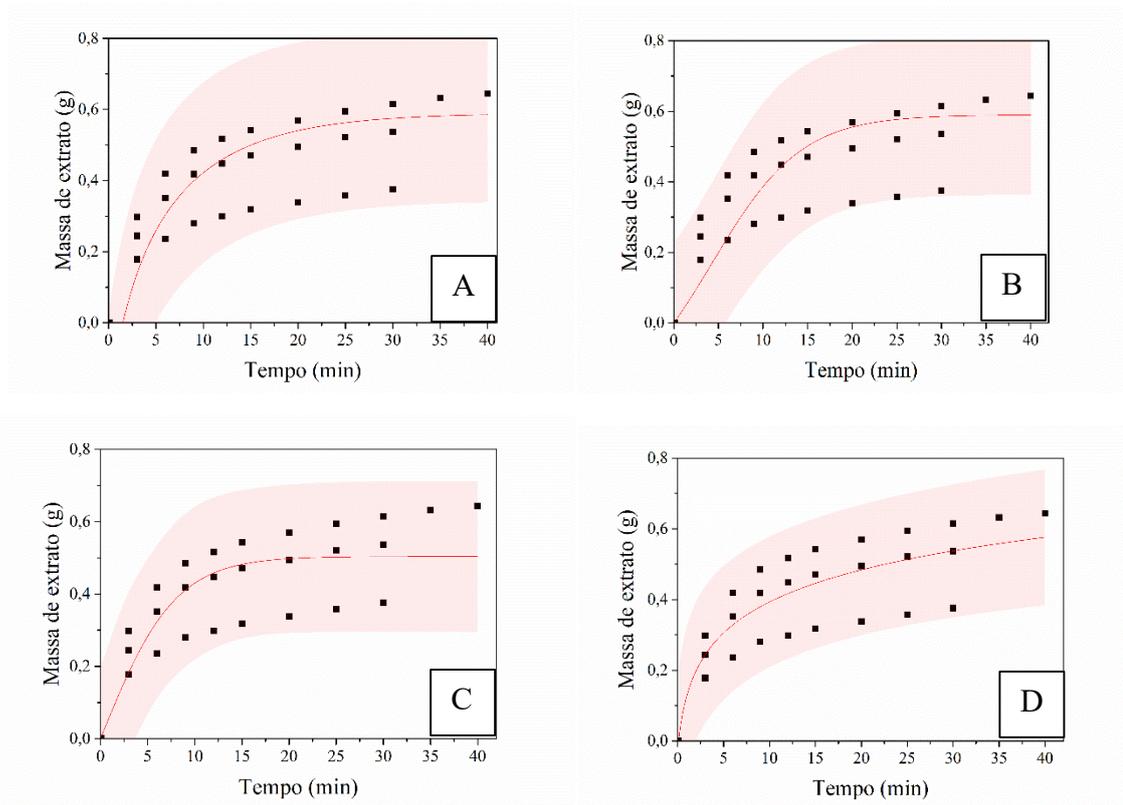


5.5 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO

O monitoramento cinético deste processo de extração (Figura 16) até 40 min demonstrou que é possível alcançar uma estabilização a partir de 15 min, com uma quantidade máxima de extrato de 0,53 g. Para o espilantol, o monitoramento foi realizado até 25 min (Figura 17), alcançando-se um equilíbrio em 20 min, com 0,89 mg do composto. Neste tempo, a massa de composto obtida foi de 94,9 % em relação a quantidade total extraída.

Os dados cinéticos do extrato obtido por ELP também foram ajustados pelos quatro modelos utilizados anteriormente (Figura 17; Tabela 5).

Figura 17. Cinética de extração a 70 °C utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator ajustada pelo modelo de Gaspar (A), modelo logístico de Martínez et al. (2003) (B), modelo de Martínez modificado (C) e modelo logarítmico (D).

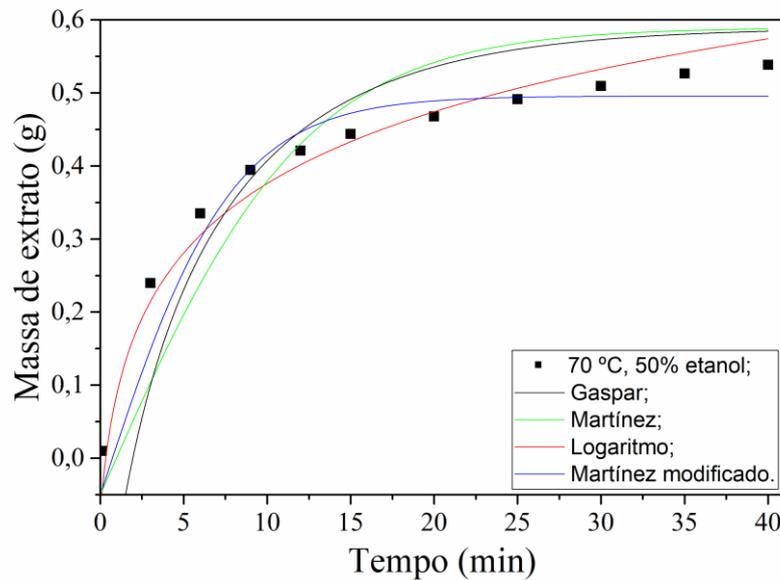


No tempo mais viável de extração para obtenção de espilantol (20 min), a 95% de probabilidade, observa-se que a quantidade de extrato, a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator, pode variar entre 0,29 e 0,78 g aplicando-se o modelo de Gaspar,

0,32 a 0,76 g pelo modelo de Martínez, 0,29 a 0,70 g pelo modelo modificado de Martínez e 0,29 a 0,66 g pelo modelo logarítmico.

Os ajustes dos modelos aos valores médios de massa de extrato em função do tempo são apresentados na figura abaixo.

Figura 18. Modelos aplicados a curva cinética de extrato por ELP a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.



Dentre os modelos avaliados, analisando como critério os valores de EMQ, AIC e BIC (Tabela 6), o modelo que mais se aproxima dos dados (menor EMQ, AIC e BIC) e que melhor explica a variabilidade (maior R^2) do extrato em função do tempo é o modelo logarítmico.

Tabela 6. Parâmetros do modelo logarítmico aplicado a cinética referente a massa de extrato por ELP.

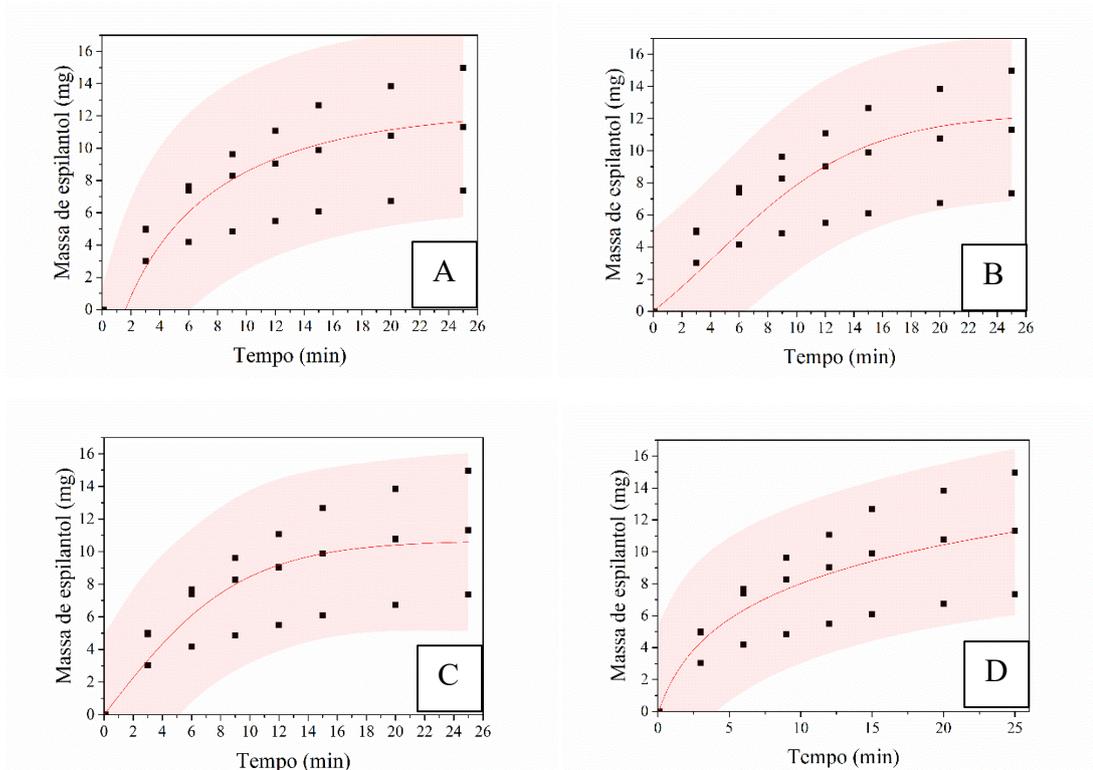
Gaspar		Martínez		Martínez modificado		Logarítmico	
P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor
D_m	24,79	t_m	$4,32 \cdot 10^{-15}$	t_m	$2,54 \cdot 10^{-4}$	a	0,08
-	-	b	0,16	B	1365,51	b	-0,13
-	-	-	-	C	0,25	c	0,48
R^2	0,57	R^2	0,68	R^2	0,74	R^2	0,79
EMQ	0,12	EMQ	0,10	EMQ	0,10	EMQ	0,09
AIC	-119,37	AIC	-125,91	AIC	-129,01	AIC	-134,67

BIC	-117,10	BIC	-122,76	BIC	-125,21	BIC	-130,87
-----	---------	-----	---------	-----	---------	-----	---------

*Abreviação de parâmetro.

Ao aplicar estes mesmos modelos para a cinética do espilantol (Figura 19), os valores dos parâmetros são apresentados na tabela 6 e os conceitos seguem como descrito no item 5.4.

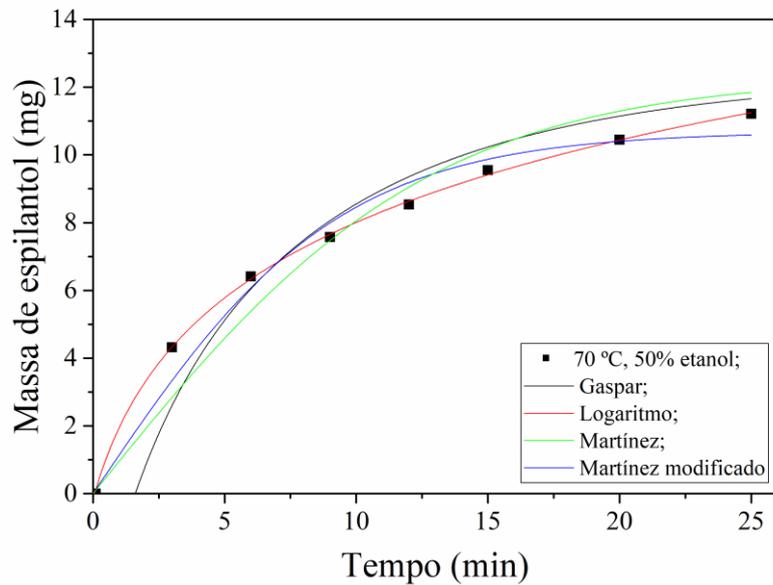
Figura 19. Cinética de espilantol a 70 °C utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator ajustada pelo modelo de Gaspar (A), pelo modelo logístico de Martínez (B), modelo de Martínez modificado (C) e modelo logarítmico (D).



No tempo de 20 min, a 95% de probabilidade, observa-se que a quantidade de espilantol, a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator, pode variar entre 5,18 a 17,10 mg aplicando-se o modelo de Gaspar, 6,19 a 16,39 mg pelo modelo de Martínez, 5,13 a 15,67 mg pelo modelo modificado de Martínez, e 5,35 a 15,52 mg pelo modelo logarítmico.

Os ajustes dos modelos aos valores médios de massa de espilantol em função do tempo são apresentados na figura abaixo.

Figura 20. Modelos aplicados a curva cinética de espilantol por ELP a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.



A partir dos modelos aplicados e dos critérios de avaliação (Tabela 7) é observado que o modelo logarítmico apresenta maior ajuste para os dados (EMQ, AIC e BIC menores), explicando 71,26% da variação que os dados estão sofrendo em função do tempo.

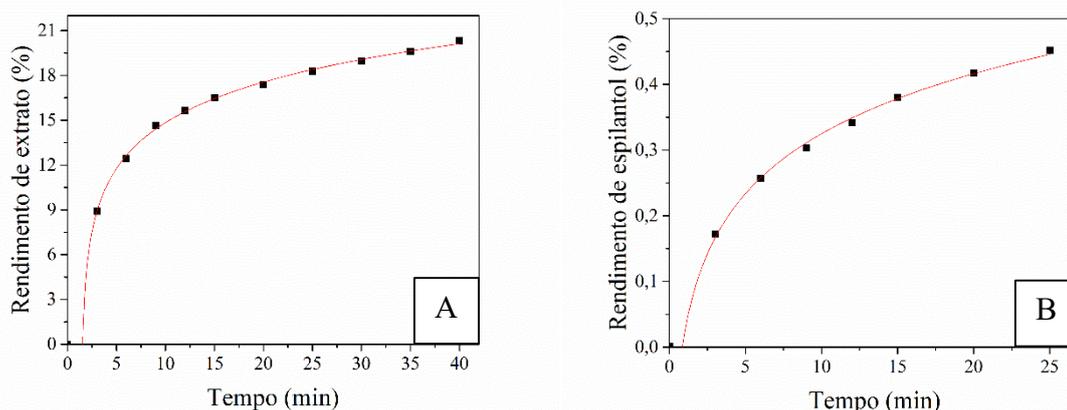
Tabela 7. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de espilantol por ELP.

Gaspar		Martínez		Martínez modificado		Logarítmico	
P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor
D_m	0,23	t_m	$4,46 \cdot 10^{-16}$	t_m	$2,49 \cdot 10^{-4}$	a	-1,33
-	-	b	0,16	b	1249,41	b	-3,84
-	-	-	-	c	0,21	c	1,35
R^2	0,53	R^2	0,67	R^2	0,69	R^2	0,71
EMQ	2,85	EMQ	2,43	EMQ	2,40	EMQ	2,34
AIC	53,82	AIC	47,66	AIC	48,92	AIC	47,63
BIC	55,61	BIC	49,99	BIC	51,53	BIC	49,59

Em relação ao rendimento (massa extrato/sólido seco), o extrato (Figura 21A) apresentou 20,32% de rendimento máximo em 40 min de extração. Já o espilantol (Figura 21B), mostrou rendimento máximo de 0,45% aos 25 min e um valor de rendimento de 0,42% aos 20

min; sugerindo que o tempo de extração poderia ser reduzido já que não há ganhos significativos neste parâmetro após 20 min.

Figura 21. Cinética do rendimento de extrato (A) e do rendimento de espilantol (B) por ELP a 70 °C utilizando uma mistura de etanol e água (50:50 v/v) como líquido extrator.



Para a extração com líquido pressurizado, variaram-se temperatura (70 e 90 °C) e concentração de etanol (50, 70 e 100%). Diferença estatística significativa foi observada somente para variações na concentração de etanol. O solvente puro e o etanol 70% resultaram em um menor e maior rendimento de espilantol, respectivamente (Tabela 8).

Este resultado pode ser explicado devido ao aumento da solubilidade do composto atribuída ao etanol, que associado à água, altera a polaridade e a densidade do solvente. O etanol a alta pressão e em temperatura acima do ponto de ebulição favorece a quebra das forças dipolo-dipolo e as ligações de hidrogênio no solvente, diminuindo a polaridade. Contudo, ao associá-lo a água, a qual permanece altamente polar mesmo sob alta pressão e temperaturas abaixo de 100°C, a polaridade do sistema é afetada a ponto de favorecer a extração do espilantol (anfílico) (PITIPANAPONG et al., 2007; HALL, 2018). Esta mesma justificativa foi apresentada por Araujo et al (2019) durante a extração de compostos fenólicos do limão taiti. Um rendimento máximo foi alcançado a 75 °C e 75% de etanol.

Tabela 8. Rendimento de espilantol em diferentes condições de temperatura e proporção água/etanol. O tempo de extração foi de 20 min (definido na análise cinética).

Temperatura (°C)	Concentração de solvente (etanol:água v/v)	Rendimento de espilantol (%) ⁽¹⁾	Teor de espilantol (%)

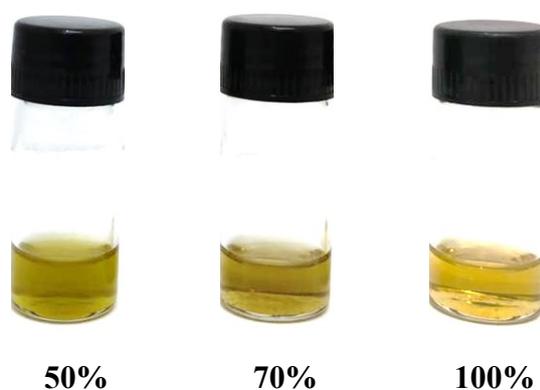
70	50:50	$0,51 \pm 0,04^{ab}$	2,58
	70:30	$0,66 \pm 0,09^a$	2,16
	100:0	$0,33 \pm 0,09^b$	1,00
90	50:50	$0,60 \pm 0,09^{ab}$	2,64
	70:30	$0,68 \pm 0,10^a$	2,96
	100:0	$0,35 \pm 0,07^b$	1,27

⁽¹⁾média \pm desvio padrão; as letras diferentes indicam que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o Teste de Tukey.

Em relação a quantidade de espilantol no extrato, houve uma maior concentração também para os casos em que se considerou uma mistura de solventes. Isto pode ter ocorrido devido a mistura apresentar uma polaridade mais alta, quando comparada ao etanol puro, indicando uma maior afinidade com o composto. Além da influência da pressão aplicada que altera a pressão de vapor dos compostos de interesse, o tamanho de partícula da matéria-prima e a disponibilidade dos solutos também podem impactar na eficiência de extração. Em pressão atmosférica, o etanol puro apresenta maior seletividade para o espilantol (LASTA, 2017; BALIEIRO et al 2020).

O uso de solventes polares também favorece a extração de clorofila, que é visível pela coloração verde dos extratos obtidos (Figura 22), o que é ainda mais evidente em polaridades mais altas (50% de etanol). Este aspecto esverdeado não é esteticamente aceito pela indústria, o que faz com que sua aplicação seja restrita e que o produto tenha um baixo valor comercial, tornando necessária uma etapa adicional de remoção da mesma (CAVALCANTI, 2008).

Figura 22. Extratos obtidos por ELP a 70 °C e 100 bar nas concentrações de 50, 70 e 100 % de etanol.



Os principais compostos identificados para os extratos por ELP a 70 °C, em diferentes concentrações de solvente (etanol-água), são apresentados na Tabela 9. Os dados de porcentagem de área do espectro evidenciam o teor de espilantol mais baixo na condição com etanol 100% e aumento dos demais compostos, provavelmente devido a uma maior solubilização de substâncias apolares neste solvente

O composto majoritário presente nos extratos avaliados foi o espilantol, com 100% de similaridade ao ser analisado na biblioteca NIST. Esta amida também foi identificada como principal metabólito em extratos de jambu obtidos por CO₂ supercrítico (BARBOSA et al., 2016d) e no óleo essencial das flores (VULPI et al., 2007). Baruah e Leclerck (1993), ao utilizar CG-EM, identificaram 20 constituintes no óleo essencial das flores de jambu, incluindo o limoneno (1) e o pentadeceno (3) encontrados neste estudo.

Ao comparar estes compostos (Tabela 9) aos obtidos no extrato por EFS (Tabela 5), o extrato por ELP se mostra mais seletivo para ácidos graxos e hidrocarbonetos, com cerca de 32,97% e 12,98 % de área do espectro para estas classes, respectivamente. Enquanto o EFS apresentou aproximadamente 23,22% para os ácidos graxos e 10,42% para os hidrocarbonetos. O que confirma uma maior seletividade do método ELP para outros compostos, reduzindo conseqüentemente, o teor de espilantol. Fato este, explicado pelo uso de diferentes solventes e condições de processo que alteram a polaridade e solubilidade, facilitando a transferência de massa dos demais compostos.

Tabela 9. Compostos majoritários identificados para os extratos obtidos por ELP a diferentes concentrações de etanol (50%, 70% e 100%).

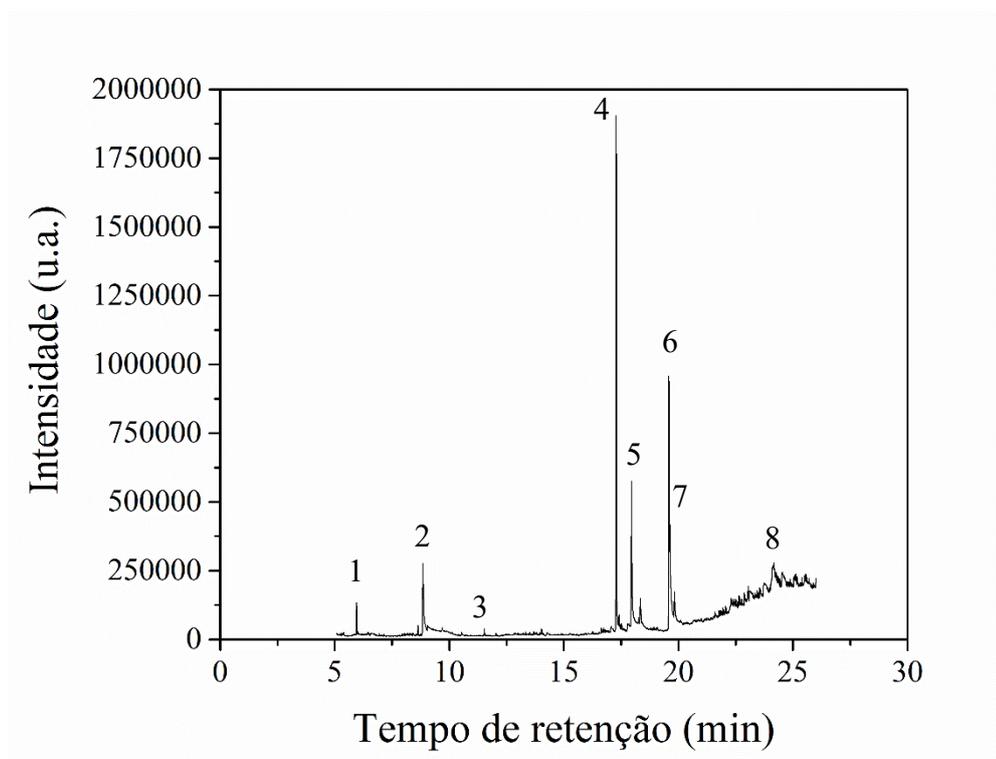
ID	t _r (min)	% área no cromatograma			Composto
		70 °C – 50%	70 °C – 70%	70 °C – 100%	
1	5,96	1,19	2,32	-	D-limoneno
2	8,85	-	10,54	2,88	1-dodeceno
3	12,83	2,26	-	2,84	1-pentadeceno
4	17,29	32,53	37,59	33,40	Espilantol
4	17,96	7,45	9,76	11,34	Ácido hexadecanoico
5	19,59	9,81	7,97	15,08	Ácido 9,12-(Z,Z)- octadecadienoico

6	19,62	11,23	9,05	11,69	Ácido 9,12-(Z,Z)- Octadecadienoico
7	24,09	2,43	3,99	24,15	Hexametil-ciclotrisiloxano

t_r : tempo de retenção (min).

Os compostos acima listados foram identificados com base na biblioteca NIST e estão apresentados na figura 23.

Figura 23. Cromatograma do extrato obtido por ELP a 70 °C, utilizando etanol 70% como líquido extrator.

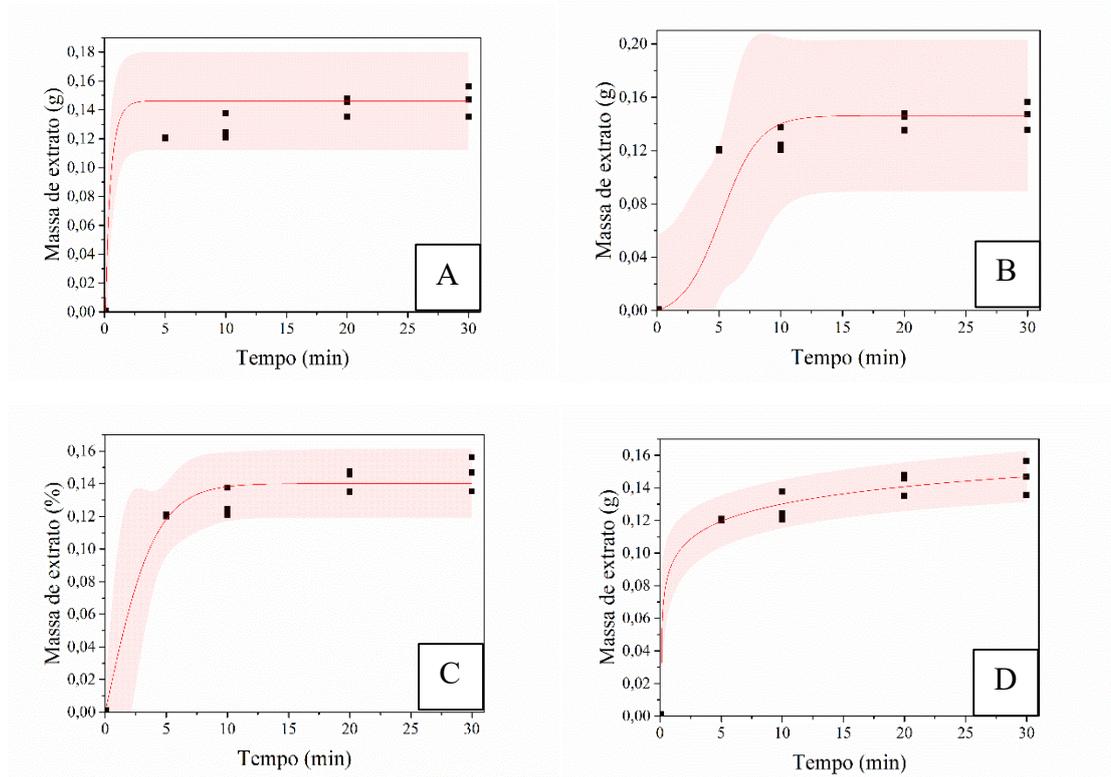


5.6 EXTRAÇÃO POR SONDA ULTRASSÔNICA

A quantidade máxima de extrato obtida após tratamento ultrassônico foi encontrada em 30 min (0,5375 g; Figura 20), similarmente ao observado para o espilantol (Figura 21). Apesar de 30 min representar a condição ótima de extração do espilantol, considerou-se 5 min como o tempo de extração. Embora se recupere 11,6% a menos de espilantol nesta condição, o tempo de processamento é reduzido em 6 vezes.

Os dados cinéticos do extrato por EAU foram também ajustados pelos quatro modelos já mencionados no EFS e ELP (item 5.4; Figura 24).

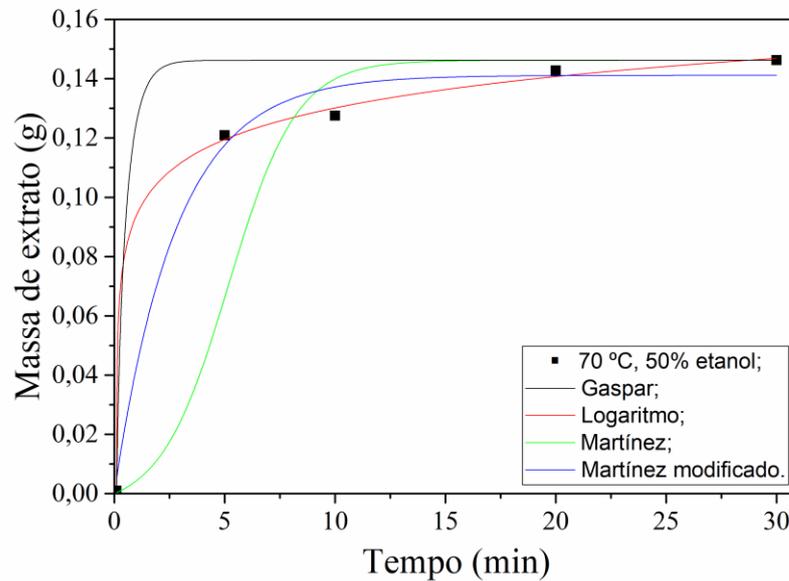
Figura 24. Cinética de extração com ultrassom a 70 °C, utilizando etanol-água (50:50 v/v) como fluido extrator, ajustada pelo modelo de Gaspar (A), modelo logístico de Martínez (B), modelo de Martínez modificado (C) e modelo logarítmico (D).



No tempo de 5 min, a 95% de probabilidade, observa-se que a quantidade de extrato, a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator, pode variar entre 0,11 a 0,18 g aplicando-se o modelo de Gaspar, 0,08 a 0,14 g pelo modelo de Martínez, 0,09 a 0,14 g pelo modelo modificado de Martínez, e 0,10 a 0,13 g pelo modelo logarítmico.

Os ajustes dos modelos aos valores médios de massa de extrato em função do tempo são apresentados na figura abaixo.

Figura 25. Modelos aplicados a curva cinética de extrato por EAU, a 70 °C, com etanol-água (50:50 v/v) como fluido extrator.



Dentre os modelos aplicados e considerando-se os critérios de avaliação (Tabela 10), observou-se que o modelo logarítmico apresenta maior ajuste para os dados (EMQ, AIC e BIC menores), explicando 98,85% da variabilidade entre a massa de extrato e o tempo.

+

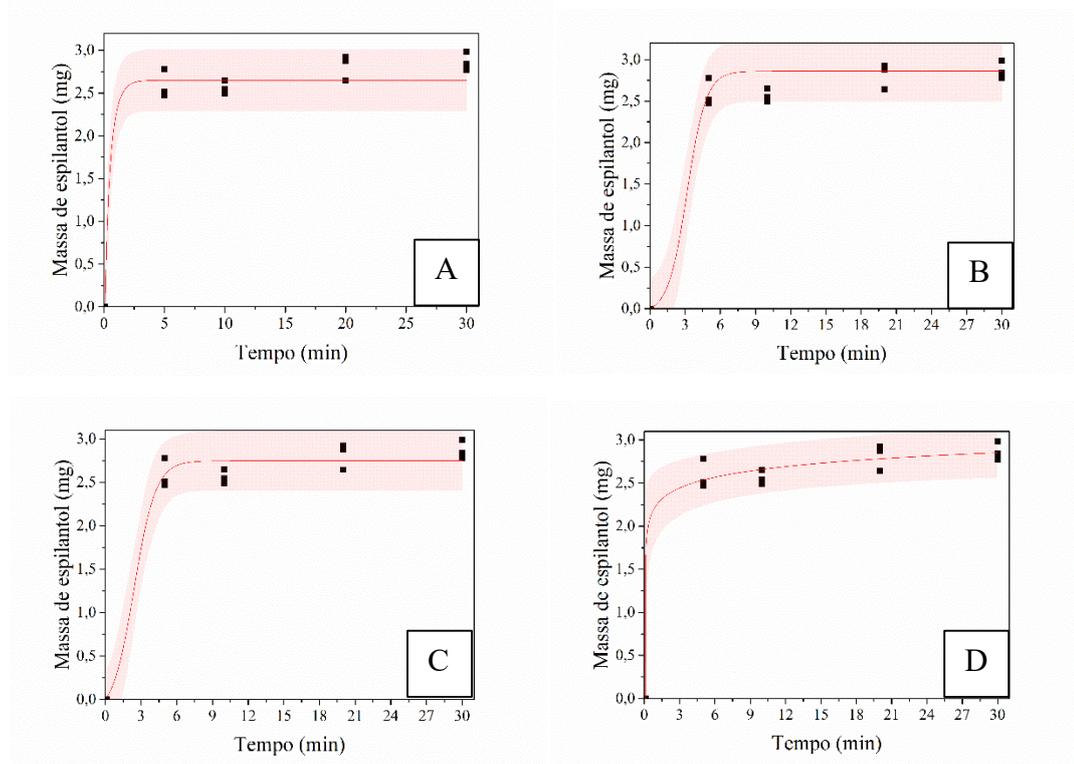
Tabela 10. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de extrato por EAU.

Gaspar		Martínez		Martínez modificado		Logarítmico	
P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor
D_m	3,83	t_m	$1,06 \cdot 10^{-12}$	t_m	$3,23 \cdot 10^{-5}$	A	0,09
-	-	b	0,43	B	2647,45	B	-0,01
-	-	-	-	C	0,49	C	-0,10
R^2	0,92	R^2	0,97	R^2	0,98	R^2	0,99
EMQ	0,02	EMQ	0,01	EMQ	0,01	EMQ	0,01
AIC	-120,37	AIC	-132,84	AIC	-132,62	AIC	-142,40
BIC	-119,96	BIC	-132,89	BIC	-133,79	BIC	-143,57

*Abreviação de parâmetro.

Quando estes mesmos modelos são aplicados a cinética de epilantol (Tabela 10), os conceitos seguem como descrito no item 5.4 (Figura 26).

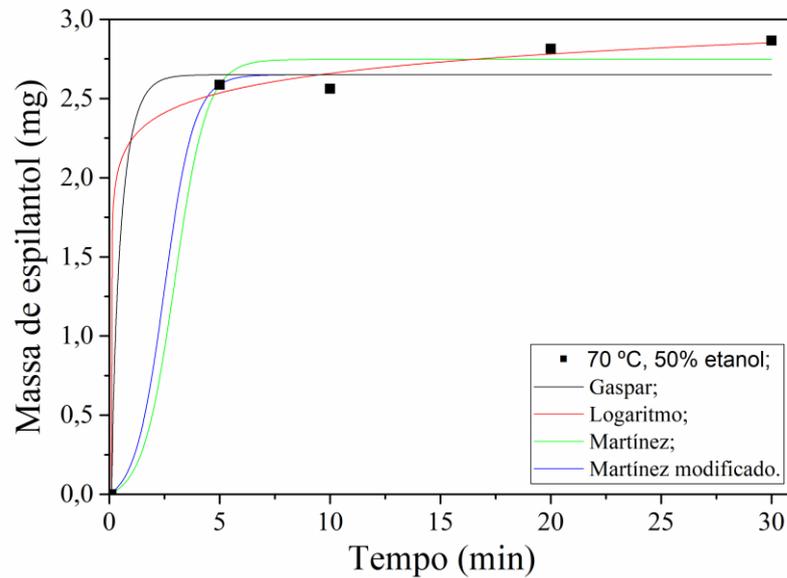
Figura 26. Cinética do espilantol extraído por ultrassom a 70 °C, utilizando 50 % de etanol em água como fluido extrator, ajustada pelo modelo de Gaspar (A), modelo logístico de Martínez (B), modelo de Martínez modificado (C) e modelo logarítmico (D).



No tempo de 5 min, a 95% de probabilidade, observa-se que a quantidade de espilantol, a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator, pode variar entre 2,29 a 3,00 mg aplicando-se o modelo de Gaspar, 2,16 a 3,01 mg pelo modelo de Martínez, 2,17 a 3,00 mg pelo modelo modificado de Martínez, e 2,23 a 2,83 mg pelo modelo logarítmico.

Os ajustes dos modelos aos valores médios de massa de extrato em função do tempo são apresentados na figura abaixo.

Figura 27. Modelos aplicados a curva cinética de espilantol por EAU, a 70 °C, utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.



Dos modelos ajustados, avaliando o EMQ, AIC e BIC, o modelo logarítmico foi o que apresentou melhores valores de proximidade dos dados (menor EMQ) e o que melhor explicou a variabilidade (maior R^2) conforme apresentado na Tabela 11.

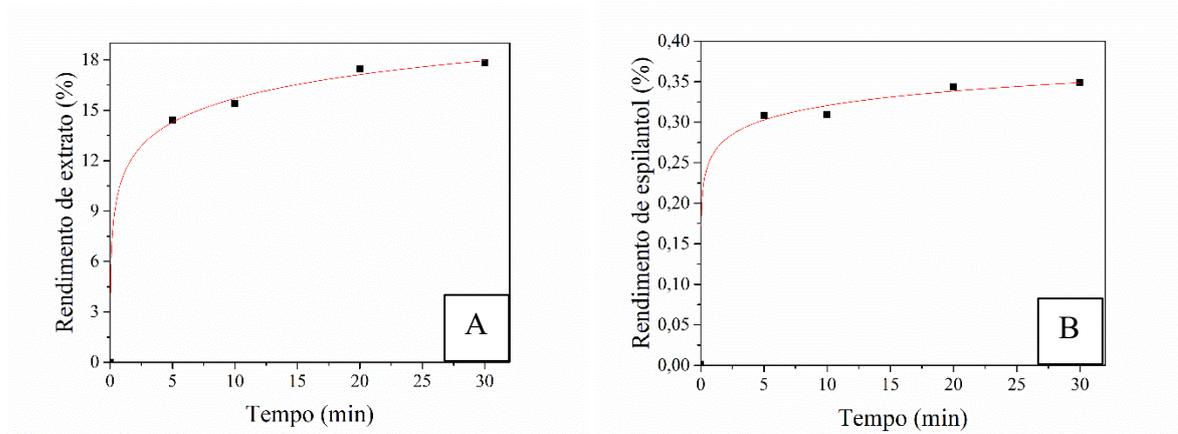
Tabela 11. Parâmetros dos modelos aplicados a cinética de espilantol por EAU.

Gaspar		Martínez		Martínez modificado		Logarítmico	
P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor	P.*	Valor
D_m	3,75	t_m	3,17	t_m	2,64	A	2,26
-	-	B	1,23	B	12,82	B	-0,17
-	-	-	-	C	1,19	C	-0,10
R^2	0,98	R^2	0,98	R^2	0,98	R^2	0,99
EMQ	0,17	EMQ	0,17	EMQ	0,16	EMQ	0,12
AIC	-49,67	AIC	-50,59	AIC	-46,87	AIC	-54,55
BIC	-49,25	BIC	-50,28	BIC	-48,04	BIC	-55,71

*Abreviação de parâmetro.

Em relação ao rendimento (massa extrato/sólido seco), o extrato (Figura 28A) apresentou 17,82% de rendimento máximo durante os 30 min de extração. Já o espilantol (Figura 28B), mostrou rendimento máximo de 0,34%, aos 30 min, e 0,31% aos 5 min (tempo utilizado para os ensaios).

Figura 28. Cinética do rendimento de extrato (A) e do rendimento de espilantol (B) a 70 °C utilizando-se etanol-água (50:50 v/v) como líquido extrator.



Dentre as concentrações de etanol testadas (Tabela 12), não houve diferença significativa entre os fluidos extratores com maior proporção deste solvente (70% e 100%). Isto pode ser explicado devido a polaridade dos solventes a pressão atmosférica. Conforme aumenta a concentração de etanol, o processo se torna mais eficaz. Bae et al (2010) e Balieiro et al (2020), que preparam extratos de jambu a partir dos processos de maceração e agitação mecânica (pressão atmosférica), respectivamente, também obtiveram maior rendimento de espilantol nas maiores concentrações de etanol. Balieiro et al (2020) também avaliou aspectos relativos à saturação do solvente, onde 25 mL de etanol mostrou ser suficiente para extrair todo o espilantol de até 10 g de flores de jambu sem saturar o solvente. Com isso, pode-se otimizar o processo de extração deste trabalho reduzindo a quantidade de solvente afim de se obter o mesmo rendimento.

Tabela 12. Rendimento de espilantol nos ensaios analisados.

Temperatura (°C)	Concentração de solvente (etanol:água v/v)	Rendimento de espilantol (%) ⁽¹⁾	Teor de espilantol (%)
------------------	--	---	------------------------

70	50:50	$0,18 \pm 0,01^b$	0,93
	70:30	$0,26 \pm 0,01^a$	1,25
	100:0	$0,30 \pm 0,01^a$	1,79

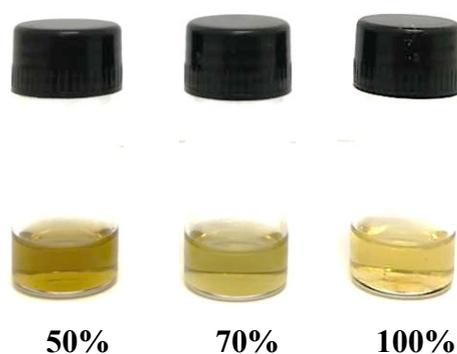
⁽¹⁾ média \pm desvio padrão; letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos (ANOVA/Tukey; $p < 0,05$).

Sharma et al. (2011) realizou a extração das flores de jambu em Soxhlet, utilizando etanol 95% até exaustão, obtendo 0,20 % de espilantol, valor este próximo ao aqui encontrado após 5 min de extração com sonda de ultrassom. Este autor também associou a utilização do etanol (líquido extrator) para a obtenção de algumas *N*-alquilamidas, como (2E,4Z)-*N*-isobutil-2,4-undecadieno-8,10-diinamida, (2Z)-*N*-fenetil-2-noneno-6,8-diinamida, (2E,7Z)-*N*-isobutil-2,7-tridecadieno-10,12-diinamida, (2E,7Z)-*N*-isobutil-2,7-decadienamida, (2E,6Z,8E)-*N*-(2-metilbutil)-2,6,8-decatrienamida, e (2E,4E,8Z,10Z)-*N*-isobutil-dodeca-2,4,8,10-tetraenamida.

Cavalcanti (2008) e Franca et al (2016) também consideraram o etanol como líquido extrator do espilantol, porém, por técnicas convencionais. Cavalcanti (2008) obteve 0,25 % espilantol a partir de 2 h de extração por refluxo. Franca et al (2016), por sua vez, obtiveram um rendimento de 0,035 % de espilantol após três dias de maceração. Considerando estes resultados, pode-se afirmar que a técnica aqui descrita foi eficaz em reduzir o tempo de extração do espilantol em relação a técnicas convencionais.

Outro fator a ser considerado é a coloração do extrato. Assim como no processo de extração com líquido pressurizado, a mistura etanol-água (50:50) apresentou uma coloração mais esverdeada.

Figura 29. Extratos obtidos por EAU a 70 °C nas concentrações de 50, 70 e 100 % de etanol.



Para a identificação dos compostos majoritários dos extratos apresentados acima utilizou-se o CG-EM (Tabela 13; Figura 30). O espilantol foi o composto com maior

porcentagem de área do espectro, seguido do ácido palmítico (3), ácido linoleico (5,6) e do acetato de lupelila (8). Todos os compostos foram identificados a partir da biblioteca NIST. Em um estudo com extrato hidroetanólico (75% etanol), Bae et al. (2010) identificou 8 alcalamidas, das quais a N-(2-metilbutil)-(2E,6Z,8E)-decatrienamida também foi identificada neste estudo e citada por Barbosa et al (2016b) como a segunda alcalamida mais abundante no extrato de jambu.

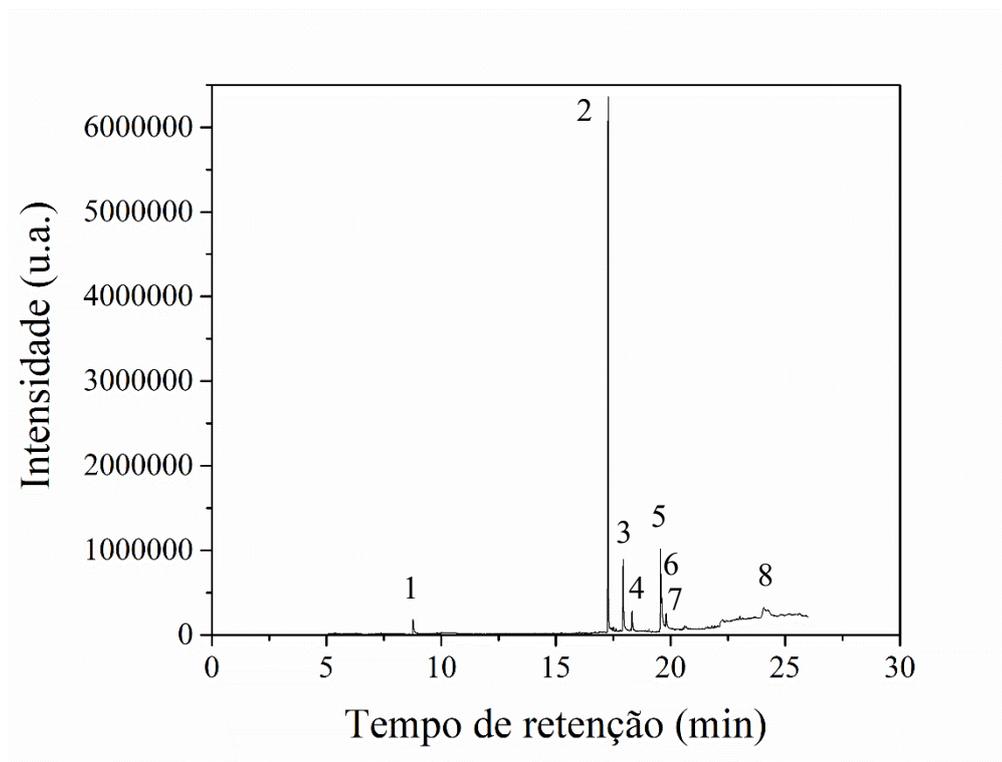
A EAU (Tabela 13) apresentou porcentagem de área do espectro de espilantol maior quando comparado a ELP (Tabela 9), contudo, muitos compostos com diferentes pesos não foram identificados pelo método de CG-EM. Por isso, este valor não pode ser levado em consideração para quantificar a concentração deste composto no extrato.

Tabela 13. Compostos majoritários identificados para os extratos por EAU a diferentes concentrações de etanol (50%, 70% e 100%).

ID	t _r (min)	% área no espectro			Composto
		70 °C – 50%	70 °C – 70%	70 °C – 100%	
1	8,76	0,80	3,05	3,68	Monoacetato 1,2-etanediol
2	17,26	26,26	57,45	57,14	Espilantol
3	17,94	14,07	10,98	7,75	Ácido hexadecanoico
4	18,32	1,99	2,83	4,40	Homospilantol
5	19,57	20,55	9,89	9,10	Ácido 9,12-(Z,Z)- octadecadienoico
6	19,61	14,76	9,71	8,32	Ácido 9,12-(Z,Z)- octadecadienoico
7	19,82	5,40	3,55	3,22	Ácido octadecanoico
8	24,23	14,75	2,55	6,40	Acetato de (3β)-lup-20(29)-en- 3-ol

t_r: tempo de retenção (min).

Figura 30. Cromatograma do extrato de jambu obtido por ultrassom a 70 °C com 70 % de etanol em água.



6 COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS

O método de extração por EFS a 90 °C e 300 bar resultou em maior teor de espilantol que as outras duas técnicas testadas e a temperatura não afetou o rendimento do composto. Na ELP, a temperatura também não afetou o teor do composto e valores similares foram encontrados tanto na concentração de 70/30 (etanol/água) quanto de 50/50 (etanol/água). Na EAU, as maiores concentrações de etanol (70 e 100%) resultaram em maior quantidade de espilantol. A EFS apresentou 74% maior teor que o apresentado pela ELP na concentração de 70/30 (etanol/água) a 90 °C, e foi 89% mais seletivo que a EAU na proporção 70/30 (etanol/água) e 70 °C.

Em relação ao custo dos equipamentos de extração (Tabela 14), a unidade que utiliza líquido pressurizado foi desenvolvida por Rodrigues et al. (2019) a um custo de US \$ 7.500. A unidade de extração com fluido supercrítico foi construída por Mazzutti et al. (2018) por um valor total de US \$ 23.831, 50% menor que uma unidade comercial apresentada por Johner & Meireles (2016). Já o equipamento de ultrassom possui um valor de mercado de US \$ 3.855

(empresa Ecosonics, 2020), contudo, necessita de uma centrífuga para a separação do sobrenadante, que tem um custo aproximado de US \$ 815 (empresa Quimis, 2021).

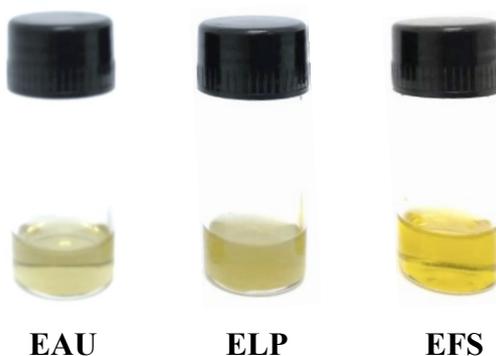
Ainda que o custo do equipamento de ultrassom seja aproximadamente cinco vezes menor que os demais métodos, o rendimento de espilantol obtido é 50% menor (Tabela 14). Uma possibilidade de reduzir ainda mais o custo deste processo seria diminuir a quantidade de solvente utilizado, considerando que a proporção planta/solvente utilizada nesse trabalho não chegou a saturar o sistema.

Tabela 14. Comparativo entre os métodos de extração avaliados.

Método de extração	Custo do equipamento	Tempo de processo	Proporção planta: solvente	Rendimento de espilantol	Teor
EFS (70 °C e 250 bar)	US \$ 23.831 (2018)	20 min	1:18	0,55%	8,28%
ELP (70 °C, 100 bar e 70 % etanol)	US \$ 7.500 (2019)	20 min	1:30	0,66%	2,16%
EAU (70 °C e pressão atm)	US \$ 4.670 (2020)	5 min	1:30	0,26%	1,25%

Os extratos obtidos por EFS são livres de solventes e com coloração amarelada (parâmetros bem aceitos na indústria), diferente dos extratos obtidos a partir de ELP e EAU (coloração esverdeada; Figura 31). A coloração esverdeada destes extratos pode estar associada a presença de clorofila, o que requer etapas de purificação. Na literatura, há uma patente registrada por Rodrigues et al. (2016) em que foi utilizado carvão ativado na proporção de 4% (m/m) para a retirada de clorofila do extrato etanólico de jambu.

Figura 31. Extratos obtidos por EAU, ELP e EFS.



Com relação aos compostos identificados nos extratos obtidos por EAU, ELP e EFS, espilantol (composto majoritário), ácido hexadecanoico (ácido palmítico) e ácido 9,12-(Z,Z)-octadienoico (ácido linoleico) foram encontrados em todas as amostras testadas. A presença destes compostos em extratos de *Acmella oleraceae* já é bem relatada na literatura (BARBOSA, 2016a; BARBOSA et al., 2016d; LENG et al., 2011).

7 CONCLUSÃO

Dentre os métodos extrativos apresentados para a obtenção de espilantol a partir do jambu, a extração por fluido supercrítico a 90 °C e 250 bar, foi a que proporcionou maior teor de espilantol (g composto/g extrato seco) durante o processo extrativo e apresentou valor de rendimento próximo ao obtido por ELP, a 70 °C e 100 bar, que foi o tratamento com maior valor de rendimento de espilantol (g espilantol/g matéria seca).

Cada técnica tem sua especificidade, como por exemplo, o custo de equipamento, rendimento e gasto energético. O fluido supercrítico apresenta um custo cinco vezes maior que a sonda ultrassônica, porém, este último proporciona um rendimento que é praticamente a metade daquele da tecnologia supercrítica.

O uso de solvente também é outro ponto a ser levado em consideração. O etanol e a água são mais baratos, quando comparados ao CO₂ e também são considerados “verdes” por diminuir e/ou evitarem a emissão de gases na atmosfera. Em contrapartida, o uso destes solventes polares extrai de forma indesejada, a clorofila, tornando-se necessária uma etapa de remoção. Por outro lado, o supercrítico extrai compostos lipofílicos mais facilmente e apresenta uma coloração mais amarelada, que possui maior aceitabilidade no mercado tendo em vista as aplicações do produto.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Otimizar os processos de extração com ultrassom e líquido pressurizado a fim de reduzir a quantidade de solvente;
- Extrair os compostos polares do extrato por fluido supercrítico com diferentes concentrações de etanol e água, com o objetivo do espilantol se ligar a esses solventes, separando-o das gorduras presentes e obter um extrato com alto teor de espilantol;

- Testar a estabilidade deste extrato em outras condições não avaliadas (ex.: liofilização, aplicação de conservante);
- Estimar o custo dos processos e do produto final.

9 IMPACTOS DA PANDEMIA NO TRABALHO

Em 18 de março de 2020, as atividades da UFSC foram paralisadas. A esperança era que o retorno fosse breve, contudo, foi possível retomar as atividades somente no final de julho de 2020. Neste período, foi realizado um revezamento no laboratório para que todos que estavam com urgência na pesquisa pudessem realizar suas atividades. Em 25 de fevereiro de 2021, houve nova limitação de acesso à Universidade até o dia 5 de abril de 2021.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. M. Estudo de diferentes métodos de extração por ultrassom de pesticidas em latossolo utilizando técnicas cromatográficas. **Dissertação (Mestrado em Química)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. 2002.
- BAE, S. S.; EHRMANN B. M.; ETTEFAGH, K. A.; CECH, N. B. A validated liquid chromatography – electrospray ionization-mass spectrometry method for quantification of spilanthol in *Spilanthes acmella* (L.) Murr. **Phytochemical Analysis**. v. 21, p. 438-443, 2010.
- BARBOSA, A. F. Avaliação química e biológica do jambu (*Acmella oleracea* L.) seco com ar frio e liofilizado. **Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)** – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ. 2016a.
- BARBOSA, A. F.; CARVALHO, M. G.; SMITH, R. E.; SABAA-SRUR, A. U. O. Spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 1, p. 128-133, 2016b.
- BARBOSA, A. F.; OLIVEIRA, M. C. C.; CARVALHO, M. G.; SABAA-SRUR, A. U. O. S. Effects of *Acmella oleracea* methanolic extract and fractions on the tyrosinase enzyme. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 3, p. 321-325, 2016c.
- BARBOSA, A. F., PEREIRA, C. D. S. S., MENDES, M. F., DE CARVALHO JUNIOR, R. N., DE CARVALHO, M. G., MAIA, J. G. S., & SABAA-SRUR, A. U. O. Spilanthol Content in the Extract Obtained by Supercritical CO₂ at Different Storage Times of *Acmella Oleracea* L. **Journal of Food Process Engineering**., v. 40, n. 3, p. e12441, 2016d.
- BARUAH, R. N.; & LECLERCKQ, P. A. Characterization of the essential oil from flower heads of *Spilanthes acmella*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 5, p. 693-698. 1993.
- BENELLI, P. Obtenção de extratos bioativos de folhas de *Casearia sylvestris* e encapsulamento em biopolímero utilizando a tecnologia supercrítica. **Tese (Doutorado em Engenharia de**

Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2014.

BISCAIA, D. Comparação entre tecnologia supercrítica e técnicas convencionais de extração para obtenção de extratos de própolis avaliados através de suas atividades biológicas. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2007.

BLANCO, V. S. F. Extração de espilantol no contexto da química verde e sua aplicação no tratamento da mucosite oral. **Tese (Doutorado em Odontologia)**. Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba, SP. 2018a.

BLANCO, V. S. F.; MICHALAK, B.; ZELIOLI, Í. A. M.; OLIVEIRA, A. S. S.; RODRIGUES, M. V. N.; FERREIRA, A. G.; GARCIA, V. L.; CABRAL, F. A.; KISS, A. K.; RODRIGUES, R. A. F. Isolation of spilanthol from *Acmella oleracea* based on Green Chemistry and evaluation of its *in vitro* anti-inflammatory activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 140, p. 372-379, 2018b.

BLANCO, V. S. F.; MONTEIRO, K. M.; OLIVEIRA, P. R.; OLIVEIRA, E. C. S.; BRAGA, L. E. O.; CARVALHO, J. E.; RODRIGUES, R. A. F. Spilanthol, the principal alkylamide from *Acmella oleracea*, attenuates 5- fluorouracil- induced intestinal mucositis in mice. **Planta Medica**. v. 85. p. 203-209. 2019.

BORGES, L. S. Biomassa, teores de nutrientes, espilantol e atividade antioxidante em plantas de jambu (*Acmella ciliata* Kunth) sob adubações mineral e orgânica. **Dissertação (Mestrado em Agronomia)** – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP. 2009.

BORGES, L. S.; VIEIRA, M. A.; MARQUES, M. O. M.; LIMA, G. P. P. Composição do óleo essencial de jambu cultivado sob adubação orgânica. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 3365-3370. 2010.

BUITIMEA-CANTÚA, G. V.; BUITIMEA-CANTÚA, N. E. B.; ROCHA-PIZAÑA, M. R.; ROSAS-BURGOS, E. C.; HERNÁNDEZ-MORALES, A.; MOLINA-TORRES, J. Antifungal and anti-aflatoxigenic activity of *Heliopsis longipes* roots and affinin/spilanthol against *Aspergillus parasiticus* by downregulating the expression of aflD and aflR genes of the aflatoxins biosynthetic pathway. **Journal of Environmental Science and Health**. v. 55, n. 3, p. 210-219. 2019.

CASTRO-MUÑOZ, R., FILA, V. Membrane-based technologies as an emerging tool for separating high-added-value compounds from natural products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 82, p. 8-20. 2018.

CAVALCANTI, V. M. S. Extração de espilantol de *Spilanthes acmella* var *oleraceae* com dióxido de carbono supercrítico. **Tese (Doutorado em Engenharia Química)** – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2008.

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

COSTA, S. S. Extração de espilantol assistida por micro-ondas a partir de flores, folhas e caules de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen). **Tese (Doutorado em Engenharia Química)** – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2014.

CRUZ, P. B.; BARBOSA, A. F.; ZERINGÓTA, V.; MELO, D.; NOVATO, T.; FIDELIS, Q. C.; FABRI, R. L.; CARVALHO, M. G.; SABAA-SRUR, A. U. O.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O. Acaricidal activity of metanol extract of *Acmella oleracea* L. (Asteraceae) and spilanthol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodae). **Veterinary Parasitology**. v. 228. p. 137-143. 2016.

DEMARNE, F.; PASSARO, G. Use of an *Acmella oleracea* extract for the botulinum toxin-like effect thereof in an anti-wrinkle cosmetic composition. Titular: Gattefosse Sas. **US7531193B2**. Depósito: 20 jan. 2005. Concessão: 12 maio 2009.

DEGANI, A. L.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. **Química Nova na Escola**. n. 7. 1998.

DIAS, A. M. A., SANTOS, P., SEABRA, I. J., JÚNIOR, R. N. C., BRAGA, M. E. M., & SOUSA, H. C. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**. v. 61, p. 62-70. 2012.

DIAS, A., SILVA, A. C, BOTELHO, J. R., JUNIOR, R. N., SOUSA, H. C., BRAGA, M. E. Temperature and density effects of the scCO₂ extraction of spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers. **The Journal of Supercritical Fluids**. v. 121, p. 32-40. 2017.

DUBEY, S.; MAITY, S.; SINGH, M.; SARAF, S. A.; SAHA, S. Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthes acmella*: a review. **Advances in Pharmacological Sciences**. ID 423750. 2013.

European Patent Register. Disponível em <https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/032240086/publication/US2010291005A1?f=publications.pd%3Ain%3D20100101-20191231&q=spilanthol&queryLang=en%3Ade%3Afr>>. Acesso em: 28 de novembro de 2019.

FACCHIN, I.; PASQUINI, C. Extração líquido-líquido em sistemas de fluxo. **Química Nova**, v. 21, p. 60-68. 1998.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4º ed., **Editora Atheneu**, São Paulo, 1988.

FURTADO, T. D. R. Utilização do método bayesiano na descrição da cinética de secagem da polpa de jaboticaba por modelos de regressão não linear. **Tese (Doutorado em Estatística e**

Experimentação Agropecuária). Programa de Pós-Graduação em Estatística e Experimentação Agropecuária da Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 2019.

FREITAS, V. S. Desenvolvimento e avaliação da eficiência de um bioadesivo contendo extrato de *Spilanthes acmella* L. Murray para administração oral como anestésico tópico. **Dissertação (Mestrado em Odontologia)** - Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba, SP. 2014.

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

HUANG, W.; HUANG, C.; HU, S.; PENG, H.; WU, S. Topical spilanthol inhibits MAPK signaling and ameliorates allergic inflammation in DNCB-induced atopic dermatitis in mice. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 20, p. 2490. 2019a.

HUANG, W.; PENG, H.; HU, S.; WU, S. Spilanthol from traditionally used *Spilanthes acmella* enhances AMPK and ameliorates obesity in mice fed high-fat diet. **Nutrients**. v. 11, n. 5, p. 991. 2019b.

JOHNER, J. C. F. & MEIRELES, M. A. A. Construction of a supercritical fluid extraction (SFE) equipment: validation using annatto and fennel and extract analysis by thin layer chromatography coupled to image. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 210-247. 2016.

JOVANOVIC-MALINOVSKA, R.; KUZMANOVA, S.; WINKELHAUSEN, E. Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 446–453, 2015.

LABVIRTUAL – Portal Laboratórios Virtuais de Processos Químicos. **Membranas**. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. Disponível em: <

http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?option=com_content&task=view&id=57&Itemid=206 >. Acesso em 02 de dezembro de 2019.

LALTHANPUII, P. B.; & LALCHHANDAMA, K. Chemical composition and broad-spectrum anthelmintic activity of a cultivar of toothache plant, *Acmella oleraceae*, from Mizoram, India. **Pharmaceutical biology**, v. 58, p. 393-399. 2020.

LAVANYA, D. K.; SHIVANNA, M. B.; GANESHAN, S. Chemical variation of *Spilanthes* species (Asteraceae) a medicinal herb in peninsular india – revealed by GCMS-MS. **International Journal of Pharmacy and Biological Sciences**. v. 06, n. 03, p. 86-97. 2016.

LEIDENS, N. Extração, purificação e fracionamento das antocianinas do bagaço de uva. **Trabalho de conclusão em engenharia química**. Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. 2011.

LENG, T. C.; PING, N. S.; LIM, B. P.; KENG, C. L. Detection of bioactive compounds from *Spilanthes acmella* plants and its various *in vitro* culture products. **Journal of Medicinal Plants**, v. 5, p. 371-378. 2011.

LIMA, M. V. Influência da extração assistida por ultrassom no processo de maceração dinâmica na extração de compostos presentes em resíduos do processamento de batata e de cebola. **Tese (Doutorado em Engenharia Química)** – Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, CE. 2019.

MACHADO, F. M. V.; BRAZACA, S. G. C.; & PIEDADE, S. M. S. Avaliação da disponibilidade de ferro em ovo, cenoura e couve e em suas misturas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n. 3, p. 610-618. Campinas, SP. 2006.

MACHADO, A. B. Estudos do processo de extração líquido-líquido para a purificação do ácido acrílico. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)** – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2007.

MACHADO, A. P. F. Extração de compostos biativos do bagaço da amora-preta (*Rubus spp.*) utilizando líquidos pressurizados. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)** –

Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2014.

MACHADO, M. T., ECA, K. S., VIEIRA, G. S., MENEGALLI, F. C., MARTÍNEZ, J., HUBINGER, M. D. Prebiotic oligosaccharides from artichoke industrial waste: Evaluation of different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 141–148, 2015.

MARTIN, R. & BECKER, H. Amides and other constituents from *Acmella ciliata*. **Phytochemistry**, v. 24, p. 2295-2300. 1985.

MAZZUTTI, S., RODRIGUES, L. G. G., MEZZOMO, N., VENTURI, V., FERREIRA, S. R. S. Integrated green-based processes using supercritical CO₂ and pressurized ethanol applied to recover antioxidant compounds from cocoa (*Theobroma cacao*) bean hulls. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, p. 52-59. 2018.

MELO, G. C. S. Uso de métodos não convencionais visando a obtenção de extratos naturais enriquecidos de biomoléculas a partir de rejeitos vegetais descartados em feiras livres. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** - Universidade Federal do Pará. Belém, PA. 2018.

MENDES, A. C. G.. Uso de ultrassom para extração de frutooligosacarídeos de raízes de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) e estudo da absorção de seus açúcares em resinas de troca catiônica. **Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2017.

MENDOZA, M. P. G.; PARDO, F. A. E.; BASEGGIO, A. M.; BARBERO, G. F.; JUNIOR, M. R. M.; ROSTAGNO, M. A.; MARTÍNEZ, J.. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from juçara (*Euterpe edulis* Mart.) residues using pressurized liquids and supercritical fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**. v. 119, p. 9-16. 2017.

MILANI, E.; KOOCHEKI, A.; GOLIMOVAAHED, Q. A. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, n. 8, p. 1699–1704, 2011.

MONDIN, C.A.; MAGENTA, M.A.G.; NAKAJIMA, J.N.; SILVA, G.A.R. *Acmella* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15913>>. 2015.

NASCIMENTO, L. E. S.; ARRIOLA, N. D. A.; SILVA, L. A. L.; FAQETI, L. G.; SANDJO, L. P.; ARAUJO, C. E. S.; BIAVATTI, M. W.; OLIVEIRA, J. L. B; AMBONI, R. D. M. Phytochemical profile of different anatomical parts of jambu (*Acmella oleraceae*): a comparison between hydroponic and conventional cultivation using PCA and cluster analysis. **Food Chemistry**, v. 332, p. 127393. 2020

NIETO, A., BORRULL, F., POCURULL, E., MARCE, R. M. Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 7, p. 752–764. 2010.

NUQUIOCAT – Núcleo de Química Orgânica e Catálise da Universidade Federal de Santa Catarina. Responsável: Patrícia Bulegon Brondani. **Cromatografia em coluna**. Disponível em: <<http://nuquiocat.quimica.blumenau.ufsc.br/files/2016/07/Cromatografia-em-Coluna.pdf>>. Acesso em 01 de dezembro de 2019.

OLIVEIRA, D. C. R., SOARES, E. K. B., FERNANDES, H. R., BRASIL, L. S. N. S. Elaboração e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de pasta de alho condimentada com jambu (*Spilantes oleraceae*) desidratado. **Scientia Plena**, v. 10, n. 1, p. 11501. 2014

OLIVEIRA, S. A. Isolamento e purificação de ácido hialurônico da crista de frango e incorporação em membranas de celulose bacteriana. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)** - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, PR. 2017.

OLIVEIRA, N. A. Caracterização da farinha do mesocarpo e do óleo das amêndoas de Babaçu (*Orbignya phalerata*, Mart.) obtidos via extração com fluido supercrítico e líquido pressurizado: estudos pré-clínicos e toxicológicos. **Tese (Doutorado em Ciências)** – Faculdade

de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo. Pirassununga, SP. 2018.

OLIVEIRA, A. L. Extração das antocianinas de cascas de “bandinhas” de feijão preto (*Phaseolus vulgaris*). **Trabalho de Conclusão (Engenharia Química)** – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2019.

PADILHA, G. S. Caracterização, purificação e encapsulamento de lipase de *Burkholderia cepacia*. **Tese (Doutorado em Engenharia Química)** - Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2010.

PAUL, S.; MODAK, D.; DUTTA, S.; CHAUDHURI, T. K.; BHATTACHARJEE, S. Evaluation of the effectiveness of *Acmella uliginosa* (Sw.) Cass. Flower methanolic extract in pain amelioration and memory impairment in the experimental rat models: search for an alternative remedy over opioid painkillers. **Original Article**, v. 15, n. 64, p. 335-345. 2019.

PINHEIRO, M.; CUNHA, A. R.; MARINHO, A. M. R.; SILVA, S. Y. S.; FILHO, T. A.; GESTER, R. Solvent polarity effects on thermochemical and NMR parameters of spilanthol pharmacological agente: an experimental and DFT investigation. **Structural Chemistry**, v. 31, p. 2281-2290. 2020.

PINHEIRO, M. T. Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante, citotóxica, inseticida e repelente de extratos vegetais das folhas de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, *Acmella ciliata* (Kunth.) Cass e *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray (Asteracear) contra *Aedes aegypti*. **Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia)** – Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, Universidade Federal do Amapá. Macapá, AP. 2016.

PITIPANAPONG, J.; CHITPRASERT, S.; GOTO, M.; JIRATCHARIYAKUL, W.; SASAKI, M.; SHOTIPRUK, A. New approach for extraction of charantin from *Momordica charantia* with pressurized liquid extraction. **Separation and purification technology**, v. 53, n. 3, p. 416-422. 2007.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H. JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluídos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76. 2001.

RABELO, A. P. B. Estudo da eficiência de separação numa coluna de extração líquido-líquido mecanicamente agitada por palhetas rotativas. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)** – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 1995.

ROCHA, C. F.; LIMA, Y. M. S.; CARVALHO, H. O.; PINTO, R. C.; FERREIRA, I. M.; CASTRO, A. N.; LIMA, C. S.; CARVALHO, J. C. T. Action of the hydroethanolic extract of the flowers of *Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen on the reproductive performance of wistar femals rats: a popular female aphrodisiac from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 214, p. 301-308. 2018.

RODRIGUES, R. A. F., FREITAS, V. S., CARVALHO, J. E., GROPPPO, F. C. Processo de purificação de extrato de jambu, extrato purificado assim obtido, composição anestésica e bioadesivo contendo extrato purificado de jambu. **WO2016037250A1**. 17 mar. 2016.

RODRIGUES, L. G. G., MAZZUTTI, S., VITALI, L., MICKE, G. A., & FERREIRA, S. R. S. Recuperação de compostos fenólicos bioativos de resíduos agroindustriais de sementes de mamão por meio da extração subcrítica de água. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101367, 2019.

RONDANELLI, M.; FOSSARI, F.; VECCHIO, V.; BRASCHI, V.; RIVA, A.; ALLEGRINI, P.; PETRANGOLINI, G.; IANNELLO, G.; FALIVA, M. A.; PERONI, G.; NICHETTI, M.; GASPARRI, C.; SPADACCINI, D.; INFANTINO, V.; MUSTAFA, S.; ALALWAN, T.; PERNA, S. *Acmella oleracea* for pain management. **Fitoterapia**, v. 140, e.104419, 2020.

SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Otimização e avaliação econômica da extração líquida pressurizada de compostos fenólicos da casca da jabuticaba. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 3, p. 444-452. 2012.

SANTOS, K. A. Estudo dos processos de extração do óleo de candeia (*Eremanthus erythropappus*) com fluidos pressurizados e solvente assistido por ultrassom. **Tese (Doutorado em Engenharia Química)** – Centro de Engenharias e Ciências Exatas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, PR. 2018a.

SANTOS, P. H. Obtenção de extratos bioativos de feijoa – *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret – por métodos a baixa e alta pressões. **Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos)**. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2018b.

SARAF, D. K., & DIXIT, V. K. *Spilanthes acmella* Murr.: Study on its extract spilanthol as larvicidal compound. **Asian Journal of Experimental Sciences**, v. 16, p. 9-19. 2002.

SAVIC, S.; PETROVIC, S.; CEKIC, N. Identification and photostability of N-alkylamidas from *Acmella oleracea* extract. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 195, p. 113819. 2021.

SHARMA V, BOONEN J, CHAUHAN NS, THAKUR M, DE SPIEGELEER B, DIXIT VK. *Spilanthes acmella* ethanolic flower extract: LC-MS alkylamide profiling and its effects on sexual behavior in male rats. **Phytomedicine**, v. 18, p. 9-116. 2011.

SINGH, M., & CHATURVEDI, R. Evaluation of nutrient uptake and physical parameters on cell biomass growth and production of spilanthol in suspension cultures of *Spilanthese acmella* **Bioprocess Biosystems Engineering**, v. 35, p. 943-951. 2012.

SILVA, L. M. A.; CAVALCANTE, J. M.; RIBEIRO, P. R. V.; CANUTO, K. M.; BRITO, E. S. Uso da cromatografia flash como método alternativo e de baixo custo para a separação dos principais componentes do LCC. **XIX Entontro Nacional sobre Metodologias e Gestão de Laboratórios da Embrapa**. Fortaleza, CE. 2014.

SILVA, P. K. Estudo da extração de carotenoides da casca de maracujá assistida por ultrassom. **Trabalho de Conclusão (Engenharia Química)** – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS. 2015.

SILVA, A. P. S. Avaliação do teor de espilantol no ciclo de cultura de duas cultivares de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Janser em extratos obtidos por extração supercrítica. **Dissertação (Mestrado em Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos – Universidade Federal do Pará. Belém, PA. 2018.**

SILVEIRA, N. Investigação fitoquímica e farmacológica das alcanidas de *Acmella ciliata* (H. B. K.) Cassini (Asteraceae). **Tese (Doutorado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2017.**

SOH, L. H.; AGARWAL, S.; JAIN, A.; LEE, L. Y.; CHIN, S. K.; JAYARAMAN, S. Mathematical modeling of mass transfer in supercritical fluid extraction of patchouli oil. **Engineering Reports**, v. 1, p. 12051. 2019.

SOUZA, E. E.; VALE, R. S.; VIEIRA, J. G.; RIBEIRO, S. D.; FILHO, G. R.; MARQUES, F. A.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; MEIRELES, C. S.; BARUD, H. S. Preparação e caracterização de membranas de celulose regenerada a partir da celulose extraída de resíduos agroindustriais para aplicação em processos de separação. **Química Nova**, v. 38, n. 02, p. 202-208. 2015.

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

SPELMAN, K.; DEPOIX, D.; MCCRAY, M.; MOURAY, E.; & GRELLIER, P. The traditional medicine *Spilanthes acmella*, and the alkylamides spilanthol and undeca-2E-ene-8,10-diynoic acid isobutylamide, demonstrate *in vitro* and *in vivo* antimalarial activity. **Phytotherapy Research**, v. 25, n.7, p. 1098-1101. 2011.

TEIXEIRA, R. F. Recuperação, avaliação e aplicação de compostos bioativos de “bandinhas” provenientes do beneficiamento de feijão preto (*Phaseolus vulgaris*). **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 2020.**

VEGGI, P. C. Obtenção de extratos vegetais por diferentes métodos de extração: estudo experimental e simulação dos processos. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de**

Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 2009.

VIEIRA, M. E. Micorrizas arbusculares e fósforo em jambu (*Acmella oleracea*) (L.) R. K. Jansen. **Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)** – Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ. 2017.

VULPI, T. S.; MORAIS, C. P. M.; TRINDADE, A. P. F.; LIMA, M. C. H. P.; VELOZO, L. S. M.; KAPLAN, M. A. C. Análise do óleo essencial dos diferentes órgãos de *Acmella ciliata* (Asteraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 1128-1130. 2007.

WIPO - **World Intellectual Property Organization**. Disponível em: https://patentscope.wipo.int/search/pt/result.jsf?_vid=P20-K3JACY-13077. Acesso em: 28 de novembro de 2019.

ZAIBUNNISA, A. H. An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using pressurised liquid extraction (PLE). **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 233-238. 2009.