



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

Guilherme Dallarmi Sorita

**Biorrefino do subproduto do processamento do amendoim  
(*Arachis hypogea* L.) para a recuperação de compostos de alto valor agregado**

FLORIANÓPOLIS

2021

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

Sorita, Guilherme Dallarmi

Biorrefino do subproduto do processamento do amendoim  
(*Arachis hypogea* L.) para a recuperação de compostos de  
alto valor agregado / Guilherme Dallarmi Sorita ;  
orientadora, Sandra Regina Salvador Ferreira,  
coorientadora, Fernanda Vitória Leimann, 2021.  
188 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. Engenharia de Alimentos.  
3. *Arachis hypogea* L.. 4. Extrações Verdes. 5.  
Antioxidantes. I. Ferreira, Sandra Regina Salvador. II.  
Leimann, Fernanda Vitória . III. Universidade Federal de  
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de  
Alimentos. IV. Título.

Guilherme Dallarmi Sorita

**Biorrefino do subproduto do processamento do amendoim  
(*Arachis hypogea* L.) para a recuperação de compostos de alto valor agregado**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Regina Salvador Ferreira

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fernanda Vitória Leimann

Florianópolis

2021

Guilherme Dallarmi Sorita

**Biorrefino do subproduto do processamento do amendoim  
(*Arachis hypogea* L.) para a recuperação de compostos de alto valor agregado**

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

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Sandra Regina Salvador Ferreira  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Marco di Luccio  
Universidade Federal de Santa Catarina

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

Prof. Dr. Acácio Antônio Ferreira Zielinski  
Universidade Federal de Santa Catarina

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.<sup>a</sup>. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira  
Orientadora

Florianópolis, 2021

“Dedico, a todos que comigo caminham.”

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus**, pela presença constante em minha vida, por ter guiado todos os meus passos, me concebendo discernimento, saúde, força, pelas oportunidades concebidas e pelo conhecimento adquirido ao longo desses anos.

Aos meus pais, **Lucilene Regina Dallarmi e Márcio Antônio Sorita** e a minha irmã **Mariana Dallarmi Sorita** que me apoiaram incondicionalmente a todo momento e não mediram esforços para que eu pudesse realizar todos os meus sonhos.

Aos meus tios **Carlos Rogério Dallarmi e Elaine Bonaldi Dallarmi** que me auxiliaram e ajudaram desde o momento que cheguei em Santa Catarina.

Às minhas orientadoras professoras **Sandra R. S. Ferreira e Fernanda Vitória Leimann** pela oportunidade, confiança, motivação, força e ensinamentos que me levaram a conclusão deste trabalho. Agradeço também pelo apoio, paciência e esclarecimento nas horas de dúvidas e preocupações. Sou imensamente agradecido pela vossa dedicação e por todo o ensinamento proporcionado.

A prof. **Fernanda Vitória Leimann** e ao **Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA/UTFPR)** pela realização das análises de inibição enzimática

Ao **PPGEAL/UFSC** pela oportunidade de cursar o mestrado e aos **Professores**, que contribuíram com a minha aprendizagem.

À **CAPES**, pelo suporte financeiro, concedendo a bolsa de estudos a qual foi imprescindível para a realização e conclusão desse trabalho e também a **CNPq** pelo suporte financeiro para a pesquisa.

Ao **Laboratório Multiusuário de Ensino em Biologia (LAMEB)** pelas disponibilizações de horários para a realização das leituras espectrofotométricas das análises biológicas.

A todos os meus **Amigos e Colegas do LATESC**, sou muito grato por fazer parte desse ambiente agradável e acolhedor. A todos que sempre estavam dispostos e com paciência a me auxiliar nos resultados bons e ruins e na solução dos problemas. Levo comigo amizades eternas.

Aos meus **Amigos**, de longe e de perto, aos mais chegados, que sempre estiveram comigo independente de qualquer circunstância. Agradeço pelos inúmeros e bons momentos que vivemos juntos e tornaram essa época inesquecível.

A todos, que de forma direta ou indiretamente me acompanharam, aconselharam e auxiliaram na realização deste trabalho, em especial ao **Leonardo** e o **Bartholino** que estiveram me apoiando durante toda a realização desse trabalho.

A todos, meu muito obrigado!

“Trabalha com gosto e terás o gosto do trabalho.”

(Benjamin Franklin)



## RESUMO

O amendoim (*Arachis hypogea* L.) é uma leguminosa nativa da América do Sul amplamente consumida devido a sua abundância em nutrientes e o alto valor energético, com alto teor de gorduras insaturadas (ômega 9 e ômega 6). O seu consumo vai desde grãos integrais a doces, pasta de amendoim e produtos de confeitaria. O seu processamento industrial gera três subprodutos, dentre eles a casca, a pele e a torta (oriunda da produção de óleo). Dentre os subprodutos do processamento do amendoim a pele (camada rosa avermelhada que circunda o grão) se destaca, devido a sua rica composição química (12% de proteínas, 16% de lipídeos e 72% de carboidrato e uma quantidade considerável de polifenóis). Alguns estudos destacam os flavonoides (como proantocianina, e seus derivados) como os principais compostos fenólicos presente na pele, compostos que estão diretamente ligados a potentes atividades biológicas (como antioxidantes e com atividade de inibição enzimática, por exemplo,  $\alpha$ -amilases e acetilcolinesterase). Assim, o presente trabalho teve como objetivo obter extratos a partir do subproduto do processamento do amendoim (constituído prioritariamente pela pele) por meio do emprego de extrações convencionais (Soxhlet) e extrações verdes, extração supercríticas (SFE), com líquido pressurizado (PLE) e com água subcrítica (SWE), sendo com aplicações isoladas e integradas, estimulando uma economia circular, e o esgotamento parcial/total da matéria prima, num conceito de biorrefinaria. Os extratos obtidos foram avaliados quanto ao conteúdo fenólico total (pelo método de Folin-Ciocalteu), atividade antioxidante (pelos métodos de DPPH, ABTS, FRAP e descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico), atividade de inibição enzimática (frente as enzimas  $\alpha$ -amilase, precursoras do distúrbio de Diabetes *Mellitus* e acetilcolinesterase, associada ao *Alzheimer*) e por fim foram realizadas análises de identificação e quantificação de ácidos graxos dos extratos apolares, obtidos por SFE e com Soxhlet (utilizando o hexano como solvente). Os extratos que apresentaram maior rendimento foram os obtidos por extrações Soxhlet com hexano (37,65%) e etanol (35,30%), sendo esses extratos com rendimentos estaticamente iguais ao obtido por extração com água subcrítica (37,63%). Os extratos obtidos com os solventes etanol/água (70:30 v/v) com líquido pressurizado e também com o mesmo solvente e método de extração pelo processo integrado foram os que apresentaram maior composição fenólica, 109,52 e 230,79 mg GAE g<sup>-1</sup> extrato, respectivamente. A maior capacidade antioxidante nos extratos foi observada para a amostra obtida por PLE com etanol/água (70:30 v/v) no processo integrado, com exceção do método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, cujo melhor resultado foi para o extrato obtido da amostra integral (sem o pré-tratamento SFE), mas também pelo mesmo procedimento anterior. Para os ensaios de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase os menores valores de IC<sub>50</sub> foram observados para os extratos obtidos por PLE com etanol/água (70:30 v/v) e por extração Soxhlet (com etanol), ambos obtidos com a matéria prima integral, para as enzimas  $\alpha$ -amilase pancreática suína (1,52 mg mL<sup>-1</sup>) e salivar humana (0,74 mg mL<sup>-1</sup>), respectivamente. O único extrato que apresentou atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase foi o extrato obtido por PLE com etanol/água (70:30 v/v) com valor de IC<sub>50</sub> de 3,54 mg mL<sup>-1</sup>. Os ensaios de cromatografia gasosa identificaram 8 ácidos graxos nos extratos apolares, com maiores concentrações de ômega 9 e o ômega 6. Por fim, o processo integrado se mostrou eficaz na recuperação de diferentes frações do subproduto do processamento do

amendoim, com maiores rendimentos de processo e atividade antioxidante dos extratos, contribuindo assim para aumentar o esgotamento da matéria prima, sendo uma alternativa viável à obtenção de compostos naturais com diversos usos em indústrias farmacêuticas e alimentares.

**Palavras-chave:** *Arachis hypogea* L.; pele de amendoim; extrações verdes; extração supercrítica; extração com líquido pressurizado; extração com água subcrítica; processos integrados.

## ABSTRACT

Peanut (*Arachis hypogea* L.) is an important legume native from South America widely consumed due its abundance in nutrients and high energy values, with high content of unsaturated fatty acids (omega 9 and omega 6). Peanut consumption ranges from whole grains to sweets, peanut butter and confectionery. Its industrial processing generates three underused by-products including shell, skin and peanut meal (from oil production). Among them, the peanut skin (reddish pink layer that surrounds the grain) stands out due to its rich chemical composition (12% of proteins, 16% of lipids and 72% of carbohydrates and a considerable fraction of polyphenols). Some studies highlight flavonoids (such as proanthocyanidin, and their derivates) and the main phenolic compounds present in the skins, compounds that is directly linked to potential biological activities (as antioxidant and enzyme inhibition activity, such as  $\alpha$ -amylase and acetylcholinesterase enzymes). Thus, the present work aimed to obtain extracts from the by-products of peanut processing (composed primarily by the skins) through the use of conventional extractions (Soxhlet) and green extractions, such as supercritical extraction (SFE), with pressurized liquid (PLE) and subcritical water (SWE) in isolated and integrated process, simulating a circular economy, and partial/total depletion of raw material, in a biorefinery concept. The different extracts obtained were evaluated for phenolic content (by the Folin-Ciocalteu method), antioxidant activity (by the methods DPPH, ABTS, FRAP and  $\beta$ -carotene/linoleic acid system discoloration), enzyme inhibition activity (against  $\alpha$ -amylase enzymes, precursors of Diabetes Myelitis and acetylcholinesterase enzyme, Alzheimer precursors), finally, analysis of identification and quantification of fatty acids from nonpolar extracts, obtained by SFE and with Soxhlet (using hexane as solvent) were carried out. The highest yield was observed for Soxhlet extractions with hexane (37,65%) and ethanol (35,30%), which were statistically the same as those obtained by subcritical water (37,63%). The extracts obtained by ethanol/water (70:30 v/v) with pressurized liquid with the hole raw material and also by integrated process (with the same solvent and extraction process) presented the greatest phenolic composition, 109,52 and 230,79 mg GAE g<sup>-1</sup> extract, respectively. The highest antioxidant capacity by all the evaluated methods was observed for ethanol/water (70:30 v/v) extract obtained by PLE in the integrated process (with SFE pretreatment of the raw material), except for the  $\beta$ -carotene/linoleic acid system discoloration, whose best result was observed for the same technique and solvent, but with the integral raw material (without SFE pretreatment). Regarding to enzyme inhibition assays, the lowest IC<sub>50</sub> value were observed for PLE with ethanol/water (70:30 v/v) as solvent and by Soxhlet extraction (with ethanol), both obtained with integral raw material (without SFE pretreatment) for porcine pancreatic (1,52 mg mL<sup>-1</sup>) and human salivary (0,74 mg mL<sup>-1</sup>)  $\alpha$ -amylase enzyme, respectively. The only extract that showed inhibition of activity against acetylcholinesterase was the one obtained by PLE with ethanol/water (70:30 v/v) as solvent, with IC<sub>50</sub> of 3,54 mg mL<sup>-1</sup>. Gas chromatography tests identified eight fatty acids in nonpolar extracts, being omega 9 and omega 6 the majoritarian fatty acids. Finally, the integrated process proved to be an effective system to recover different fractions of peanut processing by-product, improving the yield of the process and antioxidant activity, and also, contributed to partial/total depletion of raw material and a circular economy as a renewable source, being a viable alternative to obtaining natural compounds with different uses in the pharmaceutical and food industries.

**Keywords:** *Arachis hypogea* L; peanut skin; green extraction; supercritical extraction; pressurized liquid extraction, subcritical water extraction; integrated process.

## FIGURAS

Figura 1 - Amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.): Partes característica da planta.....	9
Figura 2 - Produção mundial de amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) no ano de 2018.....	10
Figura 3 - Cadeia produtiva do amendoim, composta pelos processos primários, secundários e terciários.....	12
Figura 4 - Fluxograma de processos de extração de compostos de alto valor agregado.	18
Figura 5 - Extrator Soxhlet tradicional.....	20
Figura 6 - Diagrama esquemático de Pressão-Temperatura de uma substância pura. ...	22
Figura 7 - Estágios da extração estática (a) e dinâmica (b) por líquido pressurizado. ...	27
Figura 8 - Mecanismo de estabilização do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazina).	36
Figura 9 - Formação do radical ABTS <sup>+</sup> com a adição do persulfato de potássio.....	37
Figura 10 - Conversão do complexo Fe <sup>3+</sup> - TPTZ em Fe <sup>2+</sup> - TPTZ.....	38
Figura 11 - Reação de oxidação do β-Caroteno com radicais peroxil.....	40
Figura 12 - Resíduos do processamento do amendoim tipo <i>Runner</i> . ....	50
Figura 13 - Diagrama ilustrativo da unidade de extração supercrítica.....	54
Figura 14 - Diagrama ilustrativo da unidade de extração com líquido pressurizado e água subcrítica.....	57
Figura 15 - Curva cinética para as extrações não convencionais (a) SFE á 20 MPa, 40 °C e 1 kg de CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> e (b) PLE a 10 MPa, 80 °C e 1 mL de etanol min <sup>-1</sup> ; (c) SWE a 10 MPa, 160 °C e 1 mL de água min <sup>-1</sup> com o decaimento da coloração do extrato no decorrer do tempo. ....	70
Figura 16 - Cromatogramas representativos (CG-MS) dos extratos obtidos por Soxhlet utilizando hexano como solvente (SOX1) e extração supercrítica (SFE1 e SFE2).....	96
Figura 17 - Resumo gráfico das metodologias aplicadas no Capítulo IV. ....	103
Figura 18 - Rendimento (X <sub>0</sub> ) (a), teor de fenólicos totais (b), capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP (c) e β-caroteno (d) para PLE com etanol/água para processo não integrado a partir da matéria prima integral, (PLE – I) e para processo integrado, utilizando o resíduo da SFE, (PI), sendo: PLE - I: Extração PLE realizada com a matéria prima integral (sem o pré tratamento SFE); PI: Processo integrado (SFE + PLE aplicado ao resíduo da SFE) e BHT: antioxidante sintético (2,6-diterc-butil-p-creso)	111
Figura 19 - Rendimento (X <sub>0</sub> ) (a), teor de fenólicos totais (b), capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP (c) e β-caroteno (d) para SWE a partir da matéria prima integral (SWE - I) e para processo integrado (utilizando o resíduo do PLE, PI),	

sendo: SWE - I: Extração SWE realizada com a matéria prima integral (sem o pré tratamento SFE e PLE); PI: Processo integrado - SWE aplicado a matéria prima submetida as extrações (SFE + PLE) e BHT: antioxidante sintético (2,6-diterc-butil-p-creso) .....	117
Figura 20 - Representação do elemento de volume e volume de controle.....	144
Figura 21 - Mecanismo de transferência de massa proposto por Sovová (1994).....	149
Figura 22 - Imagem das frações obtidas no ensaio de tamanho de partícula, sendo (a) fração retida no mesh 16; (b) fração retida no mesh 20; (c) fração retida no mesh 25; (d) fração retida no mesh 32; (e) fração retida no mesh 48; (f) fração retida no fundo.....	155
Figura 23 - Curva analítica de ácido gálico utilizada na quantificação de compostos fenólicos totais dos extratos do subproduto do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) no Capítulo III. ....	159
Figura 24 - Curva analítica de Trolox (TE) utilizada no ensaio de capacidade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH dos extratos do subproduto do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) no Capítulo III. ....	160
Figura 25 - Curva analítica de Trolox (TE) utilizada no ensaio de capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS dos extratos do subproduto do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) no Capítulo III. ....	161
Figura 26 - Curva analítica de Trolox (TE) utilizada nos ensaios de capacidade antioxidante pelo método de redução do íon férrico (FRAP) dos extratos do subproduto do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) no Capítulo III.....	162

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Compostos bioativos encontrados na literatura para a pele de amendoim....	15
Tabela 2 - Propriedades químicas e físicas da água líquida em diferentes temperaturas e pressões de saturação.....	29
Tabela 3 - Matérias primas avaliadas frente a inibição da enzima acetilcolinesterase...	44
Tabela 4 – Índice de polaridade dos solventes utilizados na extração Soxhlet. ....	52
Tabela 5 - Parâmetros de caracterização da matéria prima e do leito fixo de partículas.	66
Tabela 6 - Parâmetros do modelo de regressão linear por partes das extrações a altas pressões: SFE, PLE e SWE. ....	67
Tabela 7 - Parâmetros cinéticos de extração do resíduo do processamento do amendoim com SFE a 20 MPa, 40 °C e 1 kg de CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> , PLE a 10 MPa, 80 °C e 1 mL de etanol min <sup>-1</sup> e SWE a 10 MPa, 160 °C e 1 mL de água min <sup>-1</sup> . ....	70
Tabela 8 - Rendimento global (X <sub>0</sub> ) obtidos por extrações Soxhlet e não convencionais (SFE, PLE e SWE) obtidos por diferentes solventes e em diferentes condições de pressão, temperatura. ....	71
Tabela 9 - Compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos do subproduto do processamento do amendoim por métodos a baixa e alta pressões. ....	75
Tabela 10 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) avaliada pelo método DPPH. ....	77
Tabela 11 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) avaliada pelo método ABTS. ....	79
Tabela 12 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) avaliada pelo método de redução do íon férrico - FRAP. ....	81
Tabela 13 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.) avaliada pelo método de descoloração do sistema β-caroteno/ácido linoleico. ....	83
Tabela 14 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros de capacidade antioxidante e o teor de fenólicos totais. ....	85
Tabela 15 - Valores de concentração de extratos para a inibição de 50% da atividade das α-amilases (IC <sub>50</sub> , mg mL <sup>-1</sup> ). ....	87
Tabela 16 - Valores de concentração de extratos para a inibição de 50% da atividade da Acetilcolinesterase (IC <sub>50</sub> , mg mL <sup>-1</sup> ). ....	89

Tabela 17 - Ácidos Graxos identificados e quantificados por CG-MS do subproduto oriundo do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.).	95
Tabela 18 - Ácidos Graxos identificados e quantificados na literatura para o óleo de amendoim ( <i>Arachis hypogea</i> L.).	95
Tabela 19 – Rendimento ( $X_0$ ) teor de fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante e de inibição enzimática e perfil de ácidos graxos do extrato do subproduto do processamento do amendoim, obtido por extração supercrítica a 20 MPa e 50 °C.	108
Tabela 20 – Rendimento ( $X_0$ ), teor de fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante do extrato do subproduto do processamento do amendoim, obtido no processo integrado por extração com etanol/água (70:30 v/v) pressurizado a 10 MPa e 80 °C.	110
Tabela 21 – Rendimento ( $X_0$ ), teor de fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante do extrato do subproduto do processamento do amendoim, obtido no processo integrado por extração com água subcrítica a 10 MPa e 160 °C.	114
Tabela 22 - Massas de extrato, massa acumulada e o rendimento pontual (em cada tempo) do experimento cinético para o subproduto do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> L.) para extração SFE (20 MPa, 50 °C e 1 kgCO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> ).	156
Tabela 23 - Massas de extrato, massa acumulada e o rendimento pontual (em cada tempo) do experimento cinético para o subproduto do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> L.) para extração PLE (10 MPa, 80 °C e 3 mL etanol min <sup>-1</sup> ).	157
Tabela 24 - Massas de extrato, massa acumulada e o rendimento pontual (em cada tempo) do experimento cinético para o subproduto do processamento do amendoim ( <i>Arachis hypogaea</i> L.) para a extração SWE (10 MPa, 160 °C e 3 mL de água min <sup>-1</sup> ).	158
Tabela 25 - Tempo de retenção (experimentais e encontrados na literatura) e índice de similaridade com a biblioteca NIST 11 dos picos obtidos nas análises de CG-MS.	163



## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Atividade antioxidante (%)
Abs	Absorbância
ABTS	Ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6- sulfônico)
AChE	Enzima acetilcolinesterase
ASCh	Iodeto de acetiltiocolina
CER	Período de Taxa de Extração Constante (do inglês, <i>Constant Extraction Rate</i> )
CFT	Compostos fenólicos totais
CG-FID	Cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas
CG-MS	Cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massa
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
DAD	Detector de arranjos de diodo (do inglês, <i>Diode Array Detector</i> )
DC	Período Difusional (do inglês, <i>Diffusion Controlled</i> )
DPPH	1,1-difenil-2-picrilidrazina
ESC	Extração com fluido supercrítico
ESI	Ionização por <i>electrospray</i>
EtOH	Etanol
FER	Período de Taxa de Extração Decrescente (do inglês, <i>Falling Extraction Rate</i> )
FRAP	Poder antioxidante redutor do íon férrico (do inglês, <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> )
GAE	Equivalente em ácido gálico (do inglês, <i>Galic Acid Equivalent</i> ),
GRAS	Geralmente conhecido como Seguro (do inglês, <i>Generally Recognized as Safe</i> )
H <sub>2</sub> O	Água
HCl	Ácido clorídrico
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>High Performance Liquid Chromatography</i> )
IC <sub>50</sub>	Concentração de extrato necessária para causar inibição de 50% na atividade enzimática
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de potássio
KOH	Hidróxido de potássio
LC	Cromatografia líquida (do inglês, <i>Liquid Chromatography</i> )
MALDI	Dessorção a laser assistida por matriz (do inglês, <i>Matrix-Assisted Laser Desorption</i> )
MS	Espectroscopia de massa (do inglês, <i>Mass Spectrometry</i> )
NaCl	Cloreto de sódio
NIST 11	Biblioteca de padrões utilizada na análise de CG-MS (do inglês, <i>National Institute of Standards and Technology</i> )
pH	Potencial hidrogeniônico
PLE	Extração com líquido pressurizado (do inglês, <i>Pressurized Liquid Extraction</i> )
SFE	Extração supercrítica (do inglês, <i>Supercritical Fluid Extraction</i> )
SC-CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono supercrítico
SOX	Extração Soxhlet
SWE	Extração com água subcrítica (do inglês, <i>Subcritical Water Extraction</i> )
TE	Equivalente de Trolox (do inglês, <i>Trolox Equivalent</i> )
TOF	Tecnologia de tempo de voo (do inglês, <i>Time of Flight</i> )

TPTZ	2,4,6-trifidril-s-tiazina
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra performance (do inglês, <i>Ultra-High Performance Liquid Chromatography</i> )
USDA	Departamento da agricultura dos Estados Unidos (do inglês, <i>United States Department Agriculture</i> )

## LISTA DE SÍMBOLOS

$a_0$	Área superficial específica da partícula ( $L^2$ )
$a_1(g)$	Coefficiente linear da reta na etapa CER (g)
$C_{\text{Extrato}}$	Concentração do extrato ( $mg_{\text{Extrato}} L^{-1}$ )
$\bar{d}_s$	Diâmetro médio das partículas (mm)
$h_w$	Coordenada adimensional da posição entre extração rápida e lenta
$J^*$	Taxa de transferência de unidade (adm)
$k_1$	Coefficiente angular da reta da etapa CER ( $g \text{ min}^{-1}$ )
$k_2$	Coefficiente angular da reta da etapa FER ( $g \text{ min}^{-1}$ )
$k_3$	Coefficiente angular da reta da etapa DC ( $g \text{ min}^{-1}$ )
$K_F$	Coefficiente de transferência de massa na fase fluida ( $LT^{-1}$ )
$K_S$	Coefficiente de transferência de massa do soluto na fase sólida ( $LT^{-1}$ )
$m_a$	Massa da amostra (g)
$m_e$	Massa de extrato (g)
$m_{FF}$	Massa da fase fluida (g)
$m_{\text{final}}$	Massa final da amostra (g)
$m_{FS}$	Massa do soluto (g)
$m_i$	Massa de amostra retida na peneira “i” (g)
$m_{\text{inicial}}$	Massa inicial da amostra (g)
$m_t$	Massa total de amostra (g)
$P_c$	Pressão crítica (Pa)
$P_r$	Pressão de equilíbrio (Pa)
$\dot{q}$	Taxa do fluxo mássico do solvente ( $T^{-1}$ )
$q_m$	Quantidade de solvente do início da extração do interior das partículas ( $m^3$ )
$q_n$	Quantidade de solvente de fácil acesso no final da extração ( $m^3$ )
$r_0$	Concentração inicial do soluto (adm)
$t_{\text{CER}}$	Tempo em que se encerra a etapa CER e se inicia a etapa FER (min)
$t_{\text{FER}}$	Tempo em que se encerra a etapa FER (min)
$V_c$	Volume da amostra na análise de picnometria ( $m^3$ )
$V_M$	Volume médio ( $m^3$ )
$V_r$	Volume da câmara de referência referente a análise de picnometria ( $m^3$ )
$X_0$	Concentração do soluto inicial ( $g \text{ mL}^{-1}$ )
$X_K$	Concentração do soluto não acessível ( $g \text{ mL}^{-1}$ )
$X_P$	Concentração do soluto na superfície, soluto de fácil acesso ( $g \text{ mL}^{-1}$ )
$Y_r$	Solubilidade do soluto na fase fluida (adm)
$Y_z$	Concentração do solvente na posição z ( $g \text{ mL}^{-1}$ )
$Y_{z+\Delta z}$	Concentração do solvente na posição z + $\Delta z$ ( $g \text{ mL}^{-1}$ )
$\rho_r$	Densidade específica real ( $g \text{ mL}^{-1}$ )
$\rho_s$	Densidade do sólido ( $g \text{ m}^{-3}$ )
$\tau_m$	Parâmetro de tempo no início da extração de dentro das partículas (adm)
$\tau_n$	Parâmetro de tempo no final da extração do soluto de fácil acesso
$d_i$	Diâmetro da peneira “i” (mm)
$\Delta m$	Variação da massa na fase sólida (g)
$\Delta t$	Variação do tempo (min)
$\Delta V$	Elemento de volume ( $m^3$ )
$\Delta z$	Variação da coordenada axial (L)
A	Área de seção transversal do extrator ( $m^2$ )
A	Coordenada definida pela Equação 57 (adm)

E	Parâmetro do período de extração rápida (adm)
f(r)	Função do retardo da extração por difusão no interior das partículas (adm)
H	Coordenada axial (m)
h	Coordenada definida pela Equação 38 (adm)
h	Medida de tempo (horas)
J	Taxa de transferência de massa do soluto na fase sólida ( $\text{g m}^{-1} \text{m}^3$ )
J	Taxa de transferência de massa do soluto na fase sólida ( $\text{g m}^{-1} \text{m}^3$ )
k	Parâmetro do modelo de Lack (adm)
K	Soluto não acessível (adm)
$M_{\text{CER}}$	Transferência de massa na etapa CER ( $\text{g m}^{-1} \text{m}^3$ )
N	Massa do soluto na fase sólida (g)
O	Quantidade inicial de soluto (m)
P	Soluto de fácil acesso (m)
q	Quantidade específica do solvente, definida pela Equação 46 (adm)
Q	Vazão mássica do solvente ( $\text{m min}^{-1}$ );
$Q_{\text{CO}_2}$	Vazão de $\text{CO}_2$ ( $\text{kg h}^{-1}$ )
r	Concentração da fase sólida definida pela Equação 24 (adm)
t	Tempo (min)
U	Velocidade no interior do leito ( $\text{m s}^{-2}$ )
V	Volume do extrator ( $\text{m}^3$ )
v	Volume ( $\text{m}^3$ )
W	Parâmetro do período de extração lenta (adm)
X	Concentração do extrato na matriz vegetal ( $\text{g m}^{-3}$ )
$X_0$	Rendimento global de extração (%)
y	Massa acumulada (g)
$Y_{\text{CER}}$	Concentração de soluto na fase solvente na etapa CER ( $\text{g m}^{-3}$ )
Z	Representa a coordenada axial do extrator (L);
$\varepsilon$	Porosidade do leito, ou a fração de vazios (adm).
$\tau$	Parâmetro de tempo (adm)
n	Número de frações (adm)
$\tau$	Parâmetro de tempo definido pela Equação 39 (adm)

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>i</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>x</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS</b> .....	<b>xiv</b>
<b>CAPÍTULO I - OBJETIVOS</b> .....	<b>1</b>
1       INTRODUÇÃO .....	2
2       OBJETIVOS .....	5
2.1     OBJETIVO GERAL .....	5
2.2     OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
3       DIAGRAMA CONCEITUAL .....	6
<b>CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>7</b>
1       FAMILIA FABACEAE.....	8
1.1     AMENDOIM ( <i>ARACHIS HYPOGAEA</i> L.).....	8
1.1.1   AMENDOIM: ASPECTOS ECONÔMICOS.....	9
1.1.2   PRODUÇÃO E PROCESSAMENTO DO AMENDOIM: GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS .....	10
1.1.2.1  CASCA DE AMENDOIM .....	12
1.1.2.2  PELE DE AMENDOIM .....	13
2       RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS .....	17
2.1     PRÉ-TRATAMENTO DA MATÉRIA PRIMA.....	17
2.2     MÉTODOS DE EXTRAÇÃO .....	18
2.2.1   EXTRAÇÃO SOXHLET.....	19
2.2.2   MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO.....	21
2.2.2.1  EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO (SFE).....	21
2.2.2.2  EXTRAÇÃO POR LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE).....	25
2.2.2.3  EXTRAÇÃO COM ÁGUA SUBCRÍTICA (SWE) .....	27
3       BIORREFINARIAS        APLICADAS        A        SUBPRODUTOS INDUSTRIAIS.....	31
4       COMPOSTOS FENÓLICOS .....	33
4.1     CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	34
4.1.1   MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH.....	35
4.1.2   MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS <sup>+</sup> .....	36
4.1.3   MÉTODO DE REDUÇÃO DO ÍON FÉRRICO - FRAP.....	37
4.1.4   DESCOLORAÇÃO DO SISTEMA $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO.....	39
4.2     INIBIÇÃO ENZIMÁTICA.....	40
4.2.1 $\alpha$ -AMILASE.....	40
4.2.2   ACETILCOLINESTERASE (AChE).....	42
5       ESTADO DA ARTE.....	45
<b>CAPÍTULO III - AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO NA QUALIDADE DOS EXTRATOS SO SUBPRODUTO DO PROCESSAMENTO DO AMENDOIM</b> .....	<b>47</b>
1       INTRODUÇÃO .....	48
2       MATERIAL E MÉTODOS .....	49
2.1     OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA .....	49
2.2     CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA .....	50

2.2.1	DETERMINAÇÃO DO TAMANHO MÉDIO DE PARTÍCULA .....	50
2.2.2	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE .....	51
2.2.3	DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE ESPECÍFICA REAL .....	51
2.3	EXTRAÇÃO SOXHLET .....	52
2.4	EXTRAÇÕES NÃO CONVENCIONAIS .....	53
2.4.1	EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA (SFE) .....	53
2.4.1.1	EXPERIMENTOS CINÉTICOS DE SFE .....	55
2.4.1.2	RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO ( $X_0$ ) .....	56
2.4.2	EXTRAÇÃO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS (PLE E SWE) .....	57
2.4.2.1	PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO: .....	57
2.4.2.2	EXPERIMENTOS CINÉTICOS .....	58
2.4.2.3	RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO: PLE E SWE .....	58
2.5	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE .....	59
2.5.1	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) .....	59
2.5.2	MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH .....	60
2.5.3	MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS .....	61
2.5.4	MÉTODO DE REDUÇÃO DO ÍON FÉRRICO – FRAP .....	62
2.5.5	MÉTODO DE DESCOLORAÇÃO DO SISTEMA $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO .....	62
2.6.	INIBIÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA .....	63
2.6.1	AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA $\alpha$ -AMILASE .....	63
2.6.2	INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE (AChE) .....	64
2.7	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS .....	65
2.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	65
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	66
3.1	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA .....	66
3.2	CINÉTICA DE EXTRAÇÃO (SFE, PLE E SWE) .....	67
3.3	RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO ( $X_0$ ) .....	71
3.4	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EXTRATOS .....	74
3.4.1	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS .....	74
3.4.2	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE .....	77
3.4.2.1	MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH .....	77
3.4.2.2	MÉTODO DE REDUÇÃO DO RADICAL ABTS .....	79
3.4.2.3	MÉTODO DE REDUÇÃO DO ÍON FÉRRICO - FRAP .....	81
3.4.2.4	MÉTODO DE DESCOLORAÇÃO DO SISTEMA $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO .....	82
3.4.3	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON ( $r$ ) .....	84
3.4.4	INIBIÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA .....	86
3.4.4.1	AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> DA INIBIÇÃO DAS ENZIMAS $\alpha$ -AMILASE SALIVAR HUMANA E PANCREÁTICA SUÍNA .....	86
3.4.4.2	ANÁLISE <i>in vitro</i> DA INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE .....	89
3.4.5	PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS .....	92
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	98
<b>CAPÍTULO IV – INTEGRAÇÃO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO A ALTAS PRESSÕES.....</b>		<b>100</b>
1	INTRODUÇÃO .....	101
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	102
2.1	PREPARO DA MATÉRIA PRIMA .....	104

2.2	EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS.....	104
2.2.1	EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA (EXTRAÇÃO 1).....	104
2.2.2	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (EXTRAÇÃO 2)...	105
2.2.3	EXTRAÇÃO COM ÁGUA SUBCRÍTICA (EXTRAÇÃO 3).....	105
2.3	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EXTRATOS .....	106
2.3.1	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT).....	106
2.3.2	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	106
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	107
3.1	PROCESSO INTEGRADO: ESC (EXTRAÇÃO 1).....	107
3.2	PROCESSO INTEGRADO: PLE (EXTRAÇÃO 2).....	109
3.3	PROCESSO INTEGRADO: SWE (EXTRAÇÃO 3).....	113
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	118
<b>CAPÍTULO V – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>		<b>120</b>
1	CONCLUSÃO GERAL.....	121
2	SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	123
<b>REFERÊNCIAS .....</b>		<b>124</b>
<b>ANEXO I - O MODELO DE SOVOVÁ (1994) .....</b>		<b>143</b>
<b>ANEXO II – IMAGEM DAS FRAÇÕES OBTIDAS NO ENSAIO DE TAMANHO DE PARTÍCULA.....</b>		<b>155</b>
<b>ANEXO III – DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS CINÉTICAS (SFE, PLE E SWE).....</b>		<b>156</b>
<b>ANEXO IV – CURVAS ANALÍTICAS UTILIZADAS NA QUNATIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATITIVIDADE ANTIOXIDANTE.....</b>		<b>159</b>
<b>ANEXO V – TEMPO DE RETENÇÃO DOS COMPOSTOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE CG-MS.....</b>		<b>163</b>





## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogea* L.) é uma leguminosa de origem sul americana, cultivado em países tropicais e subtropicais, com significativa produção mundial. Atualmente, países como China, Índia, África, América do Sul e Estados Unidos, se destacam com o cultivo de mais de 300 variedades, sendo a China o país de maior produção mundial (JAYAPRAKASH et al., 2019). O amendoim é apreciado mundialmente devido à sua rica composição nutricional, sendo constituído por 24% de proteínas facilmente digestivas, 44-56% de lipídeos (composto majoritariamente por ômega 9), 35% de minerais essenciais, além de fibras, vitaminas (ZAABOUL et al., 2019). A grande produção e alta disponibilidade mundial, aliado com os desejáveis atributos nutricionais do amendoim resultaram na produção de diversos derivados, como óleo e a manteiga de amendoim, produtos com coberturas doces, salgadas, picantes entre outros. A crescente aceitação da semente e de seus variados produtos, além do aprimoramento tecnológico para seu processamento, têm contribuído para o crescimento do seu mercado global. Este aquecimento do mercado amplia a geração de subprodutos, especificamente, casca, pele e torta (oriunda da produção do óleo), o que inspira novos estudos para o aproveitamento dessas biomassas, que tem potencial para fornecer diversos produtos de alto valor agregado.

A pele de amendoim (3% em massa do grão) é caracterizada como uma camada rosa avermelhada não tóxica que circunda o grão. Esse subproduto de rica composição nutricional, é obtido no terceiro estágio de processamento, após colheita, secagem ao sol e debulha (primeiro estágio), e limpeza (segundo estágio). Estimativas indicam que aproximadamente 0,94 milhões de tonelada de pele de amendoim são produzidos no mundo todo ano. Sua composição varia de acordo com o clima e o solo, sendo constituído majoritariamente por 41% de carboidratos, 10-20% de lipídeos, 19% de proteínas e 18% de fibras. Além disso, a pele de amendoim é composta por uma variedade de compostos fenólicos, como resveratrol e flavonoides (tendo como composto majoritário proantocianidinas e seus derivados) com alta capacidade antioxidante e de inibição de enzima precursoras de distúrbios e doenças (LORENZO et al., 2018).

Com isso, devido ao elevado volume de resíduos gerados com o processamento do amendoim, é válida a aplicação de processos de extração com baixo impacto ambiental capazes de recuperar compostos que apresentem as atividades relatadas (compostos fenólicos com atividades biológicas), além de outros compostos que agreguem valor ao

processamento do amendoim (como lipídeos, carboidratos, proteínas e fibras). A qualidade dos produtos (nomeadamente extratos) está relacionada com as técnicas de extração aplicadas e a polaridade do solvente utilizado. Para um eficiente processo de extração, esses parâmetros devem ser cuidadosamente selecionados, objetivando altos rendimentos de extração e seletividade de processo.

Muitos métodos tradicionais de extração apresentam inconvenientes como alto consumo energético e de solvente, emprego de solventes tóxicos e uso de altas temperaturas. Com isso, tem crescido o interesse por processos de extração alternativos como os métodos a altas pressões. O interesse por essas técnicas não convencionais de extração para compostos bioativos é em virtude do apelo ambiental, alta eficiência e seletividade. Os parâmetros destes processos, como pressão e temperatura podem afetar significativamente a composição do extrato recuperado. Dentre as técnicas não convencionais estão as extrações com fluido supercrítico (SFE), com líquido pressurizado (PLE) e com água subcrítica (SWE), que minimizam o uso ou não utilizam solventes tóxicos. Além disso, a integração desses processos também vem sendo estudada para a recuperação de diferentes extratos, como uma abordagem de biorrefinaria que visa a exaustão parcial ou total da matéria prima, contribuindo para a agregação de valor dos subprodutos do amendoim.

Diante do exposto, o intuito do presente trabalho foi utilizar técnicas não convencionais de extração, de forma isolada e integrada, para valorizar as biomassas do processamento de amendoim por meio da recuperação de frações com alto valor agregado, para uso nas indústrias alimentares e farmacêuticas.

O presente documento está dividido em cinco capítulos. Sendo este Capítulo I, com introdução, objetivos (geral e específicos) e diagrama conceitual do trabalho. No Capítulo II é apresentada uma revisão bibliográfica sobre o subproduto do processamento do amendoim, as técnicas de extração e as atividades biológicas associadas, juntamente com seus métodos de determinação, sendo que parte desta revisão foi publicada em 2020 no periódico “*Trends in Food Science and Technology*”.

O Capítulo III trata da avaliação dos parâmetros dos processos de extração (tempo, temperatura e tipo de solvente), e a comparação entre as técnicas convencionais (Soxhlet) e não convencionais (SFE, PLE e SWE) em termos de rendimento e qualidade dos

extratos (composição fenólica, atividade antioxidante e enzimática e composição de ácidos graxos). Os melhores resultados obtidos no Capítulo III possibilitaram o estudo dos métodos integrados de extração, seguindo uma proposta de biorrefinaria, como apresentado no Capítulo IV.

Finalmente, no Capítulo V estão descritas as conclusões obtidas no trabalho e as perspectivas para trabalhos futuros.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo a obtenção de extratos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) por meio do emprego de extrações convencionais, extrações verdes e com aplicações integradas, visando a aplicação do conceito de biorrefinaria.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Obter extratos do subproduto oriundo do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) pelo emprego da extração Soxhlet (a baixa pressão) com diferentes solventes, avaliando-os em termos de rendimento global;
- b) Obter extratos do subproduto oriundo do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) pelo emprego extração supercrítica utilizando CO<sub>2</sub> como solvente e identificar a melhor condição de pressão e temperatura, em termos de rendimento global, selecionando-a para testes posteriores;
- c) Obter extratos do subproduto oriundo do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) pelo emprego de extração com líquido pressurizado com diferentes solventes, selecionando-a para testes posteriores;
- d) Obter extratos do subproduto oriundo do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) pelo emprego de extração com água subcrítica e avaliá-los em termos de rendimento global;
- e) Avaliar um processo de biorrefino da matéria prima, integrando os processos a altas pressões, com o intuito de maximizar a recuperação de diferentes compostos e o esgotamento total da matéria prima;
- f) Avaliar o teor de fenólicos totais, atividade antioxidante e enzimática dos extratos do subproduto do amendoim (*Arachis hypogea* L.) por meio de diferentes técnicas *in vitro*;
- g) Avaliar a composição de ácidos graxos dos extratos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) obtidos por Soxhlet (hexano) e extração supercrítica por cromatografia gasosa (CG-MS).

### 3 DIAGRAMA CONCEITUAL

Biorrefino do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* l.) para a recuperação de compostos de alto valor agregado

#### Porquê?

- A produção de amendoim (*Arachis hypogea* L.) vem aumentando continuamente;
- A geração de subprodutos industriais, provenientes do processamento dos alimentos tem aumentando, muitas vezes esses resíduos apresentam compostos de alto valor agregado e são benéficos a saúde humana;
- O subproduto do processamento do amendoim é um material de descarte e apresenta compostos com potenciais biológicos;
- A busca pelo reaproveitamento de subprodutos industriais deve estar atrelada aos requisitos do consumidor e a processos de extração, tecnologias verdes integradas (as quais não agridem o meio ambiente), permitem a recuperação de diferentes composto e a exaustão da matéria prima;
- Os compostos bioativos oriundos do subproduto do processamento do amendoim podem ser reintroduzidos na cadeia alimentar, contribuindo para o enriquecimento de matrizes alimentares e a sustentabilidade ambiental.

#### O que consta na Literatura?

- Constam na literatura trabalhos relacionados à extração de compostos bioativos da pele e da casca do amendoim empregando técnicas de extração convencionais e fazendo o uso de solventes orgânicos tóxicos;
- Poucos trabalhos foram encontrados na literatura que usam técnicas a altas pressões para obtenção de compostos de alto valor agregado;
- Entretanto, nenhum trabalho faz referência à integração de técnicas a altas pressões com o uso de diferentes solventes “verdes” para obtenção de compostos de diferentes polaridades;
- Nenhum trabalho foi encontrado utilizando água subcrítica para obtenção de compostos de alto valor agregado do subproduto do processamento do amendoim;
- O estudo “*in vitro*” da inibição enzimática desses compostos muitas vezes não é avaliado.

#### Hipóteses

- É possível recuperar diferentes compostos com alto valor agregado empregando diferentes técnicas de extrações não convencionais?
- A integração dos processos a altas pressões é eficiente para melhorar o aproveitamento à exaustão da matéria prima?
- Existe potencial biológico nesse resíduo? Se sim, quais?
- É possível a utilização desses compostos para a inibição enzimática?

#### Desenvolvimento

- Realizar o pré tratamento e a caracterização da matéria prima;
- Estudar e selecionar os melhores parâmetros para processos de extração não convencionais a fim de se obter uma maior qualidade dos extratos e comparar com a qualidade dos extratos obtidos nos processos de extrações convencionais
- Avaliar a aplicação de processos “verdes” combinados para a obtenção de diferentes compostos;
- Avaliar a capacidade antioxidante e de inibição enzimática dos extratos obtidos e estudar o perfil químico dos extratos.

## CAPÍTULO II

### REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Parte deste capítulo foi publicado em: Sorita, G. D.; Leimann, F.V., Ferreira, S.R.S. Biorefinery approach: It is an upgrade opportunity for peanut by-products? *Trends in Food Science and Technology*, 105 (2020): 56-69.

Trends in Food Science & Technology 105 (2020) 56–69



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Trends in Food Science & Technology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/tifs](http://www.elsevier.com/locate/tifs)



Biorefinery approach: Is it an upgrade opportunity for peanut by-products?

Guilherme Dallarmi Sorita <sup>a</sup>, Fernanda Vitória Leimann <sup>b</sup>, Sandra Regina Salvador Ferreira <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Chemical and Food Engineering Department, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, CEP. 476, 88040-900, Brazil

<sup>b</sup> Post-Graduation Program of Food Technology (PPGTA), Federal University of Technology – Paraná – UTFPR, Campus Campo Mourão, via Rosalina Maria dos Santos, 1233, CEP, 87301-899, Campo Mourão, PR, Brazil



## 1 FAMILIA FABACEAE

A família Fabaceae, que tem suas espécies comumente conhecida como leguminosas, é uma das famílias mais importante no reino vegetal, em termos econômicos e medicinais. É a terceira maior família de angiospermas após Orchidaceae e Asteraceae, com 630 gêneros e mais de 18.860 espécies, sendo encontrada em vários climas do planeta, compreendendo climas tropicais e subtropicais. Dentre os membros da família Fabaceae podemos citar *Glycine max* (soja), *Phaseolus* (feijão), *Pisum sativum* (ervilha), *Cicer arietinum* (grão de bico) and *Medicago sativa* (alfalfa) e *Arachis hypogea* L., também conhecido como amendoim (AMINFAR e TOHIDFAR, 2018). No Brasil, um número de 2.870 espécies distribuídos em 225 gêneros estão distribuídos em todo o território nacional, sendo 1.546 espécies endêmicas (BOTTAMEDI et al., 2020).

### 1.1 AMENDOIM (*Arachis hypogea* L.)

O amendoim, do gênero *Arachis*, nativo da América do Sul, inclui 80 espécies das quais a *Arachis hypogea* L. se destaca pelos aspectos econômicos. Esta leguminosa é abundante em nutrientes e contém uma grande variedade de constituintes como proteínas, carboidratos, fibras, gorduras, niacina, folato, tiamina, ácido araquídico, flavonoides (composto majoritariamente por proantocianidinas), magnésio e fósforo (LIMMONGKON et al., 2017).

Os frutos (Figura 1) são vagens indeiscentes (que permanecem fechadas após atingir a maturação), de cor característica amarelo palha (25 a 35% da massa das sementes) contendo de 1 a 5 sementes, dependendo do grupo vegetativo. As sementes possuem o tegumento seminal (película branca, roxa, rosada, vermelho, negro ou variegado que envolve os cotilédones) que representa 3% em massa (g/g) das sementes. As plantas apresentam costume indeterminado de crescimento, ocorrendo concomitantemente o desenvolvimento vegetativo e o reprodutivo. Devido a esse fato, durante a fase do florescimento, a demanda por nutrientes e por condições ambientais adequadas é alta, pois os eventos de produção de folhas, flores, raízes e ginóforos ocorrem simultaneamente (KOPPELMAN et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2018; ZOU et al., 2019).



Figura 1 - Amendoim (*Arachis hypogea* L.): Partes característica da planta.



Fonte: Amaze Vege Garden (2020)

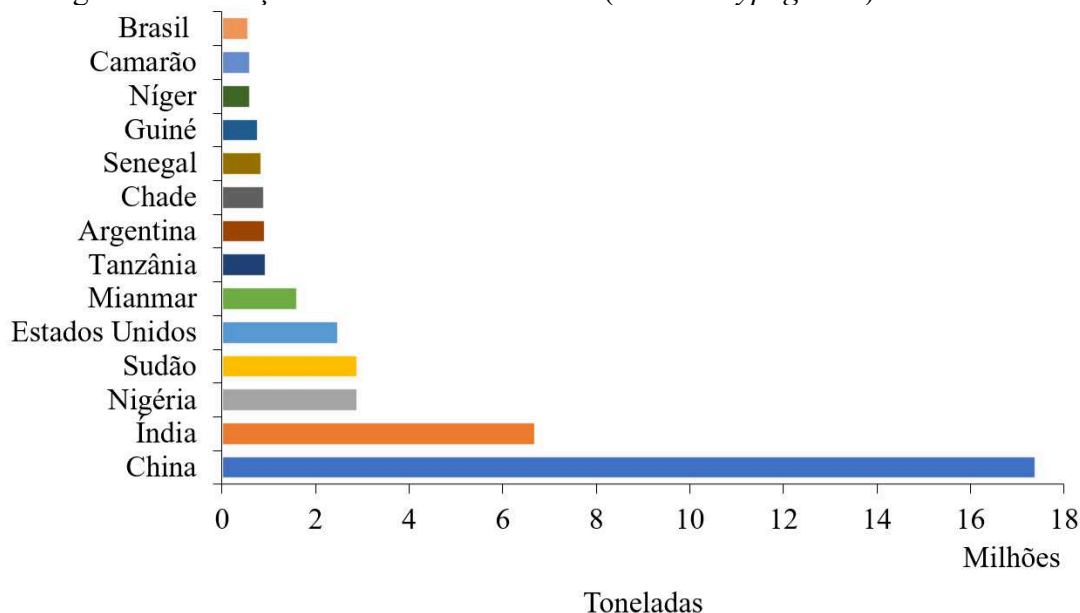
#### 1.1.1 AMENDOIM: ASPECTOS ECONÔMICOS

A produção mundial de amendoim, em 2019 foi de 46 milhões de toneladas, a contribuição dos 18 países com maior produção mundial é ilustrado na Figura 2 (FAOSTAT, 2020). China é o principal produtor, seguido pela Índia, Nigéria e Estados Unidos.

A produção de amendoim na China é desenvolvida em quatro regiões produtoras, que abastecem o mercado interno e externo com 16,5 milhões de toneladas, correspondente a 40% da produção mundial (WU et al., 2016). A Índia produziu no ano de 2019 um total de 4,6 milhões de toneladas de amendoim, se destacam os estados de Andhra Pradesh e Gujarat. A produção de 75% do amendoim cultivado na Índia se dá na estação chuvosa, porém há seleções genéticas que possibilitam a adaptação em outras estações do ano (DATARKAR et al., 2015). O cultivo do amendoim na África está concentrado no Oeste. A Nigéria e o Senegal são os maiores produtores da África Ocidental. Segundo Koppelman et al. (2016) e Lorenzo et al. (2018), os Estados Unidos também se destacam na produção, sendo os maiores produtores da América, maior parte da safra (80%) é destinada para a produção de manteiga de amendoim (MA et al., 2013). O Brasil ocupa a 18º posição na produção mundial, com uma produção de 400 mil toneladas por ano. No continente americano o Brasil ocupa a 3º posição, perdendo apenas para Estados Unidos e Argentina (MARTINS et al., 2017). A produção brasileira se concentra no Sudeste, especialmente no estado de São Paulo, sendo 80% da produção exportadas para países europeus, como Holanda, Reino Unido e Rússia, e para a Argélia,

na África (MARTINS et al., 2017). É perceptível o aumento na produção brasileira com os avanços tecnológicos em ascensão nos diferentes sistemas de cultivos no país.

Figura 2 - Produção mundial de amendoim (*Arachis hypogea L.*) no ano de 2018.



Fonte: Autor, baseado nos dados presentes em FAOSTAT (2020)

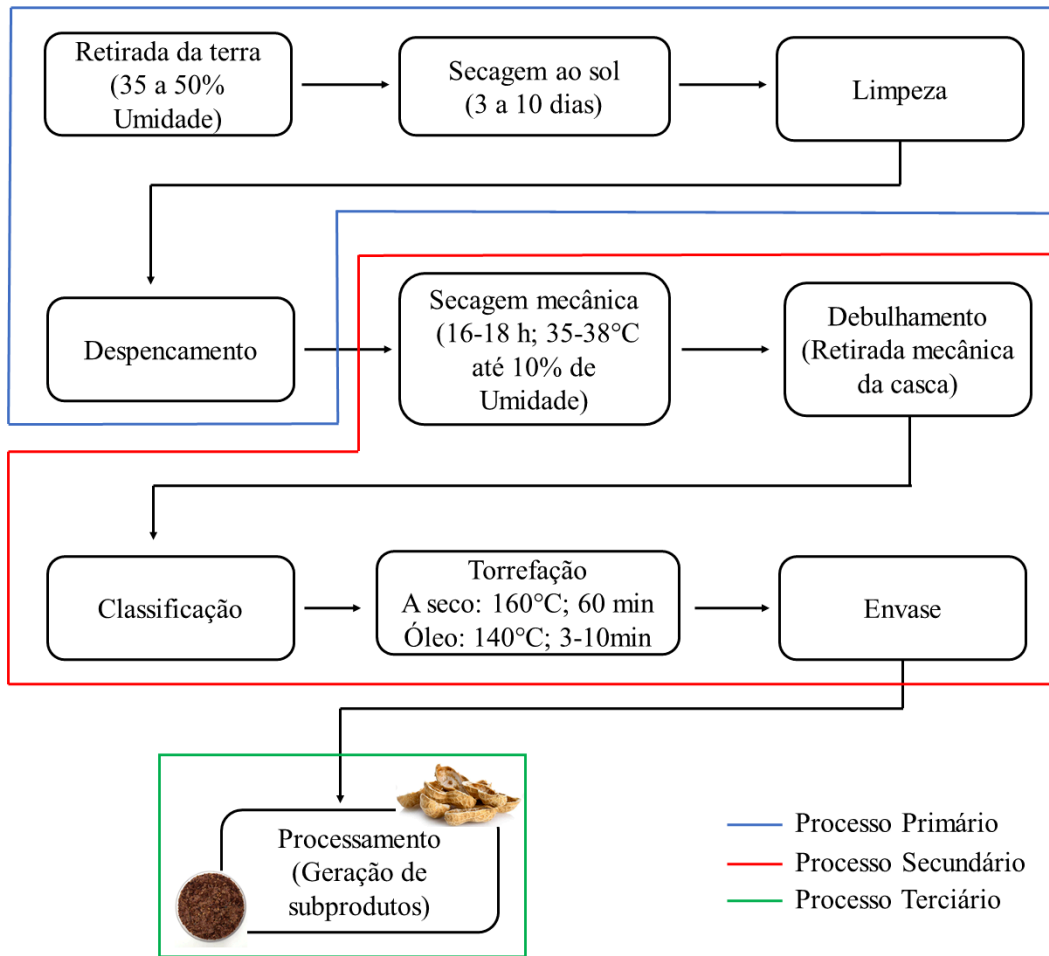
### 1.1.2 PRODUÇÃO E PROCESSAMENTO DO AMENDOIM: GERAÇÃO DE SUBPRODUTOS

O amendoim (*Arachis hypogea L.*) é uma fonte alimentar de baixo custo e nutricionalmente valiosa, por apresentar uma rica composição nutricional, como proteínas, minerais e ácidos graxos essenciais, os quais proporcionam benefícios à saúde. Alguns estudos estimam que o grão de amendoim é composto por 22 a 30% de proteínas e 44 a 56% de óleo, sendo 41 a 67% ácido oleico (18:1) (PÉREZ-ARAUZ et al., 2019; ZAABOUL et al., 2019). A valorização do amendoim se dá pela sua fração lipídica rica em triacilgliceróis, como ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido linolênico (18:2), ácido araquídico (20:0), ácido eicosenóico (20:1), ácido behênico (22:0) e ácido lignocérico (24:0). Os principais ácidos graxos insaturados presentes na composição do amendoim são o C18:1 (ômega 9), C18:2 (ômega 6). Dentre os ácidos graxos saturados, o C16:0 (ácido palmítico) se destaca, se apresentando em maior concentração. A concentração desses ácidos graxos pode variar com o local de cultivo, época da colheita, maturidade e a sua variedade. Seu consumo diversificado inclui os grãos *in natura* integrais, doces, salgados, manteiga de amendoim, produtos de

confeitaria, entre outros (AYYILDIZ et al., 2015; CAMPBELL et al., 2017; HUANG et al., 2020; KONUSKAN et al., 2019; QINZHU et al., 2018). Zaaboul et al. (2019) relataram que o alto teor de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados pode auxiliar no tempo de armazenamento, também conhecido como “*shelf-life*” dessa cultura.

O processamento do amendoim pode ser dividido em três etapas, como ilustra a Figura 3. A primeira etapa inclui o pós-colheita, como retirada da terra, secagem ao sol e despencamento. Os amendoins são colhidos por inversão mecanizada, escavação seguida da colheita propriamente dita. Na escavação, os amendoins possuem de 35 a 50% de umidade. As plantas são removidas do solo e dispostas sob formas de leiras, que são secas ao ar livre, na sequência os amendoins passam por um processo de limpeza, no qual as sujidades, pedras, material vegetal e outros detritos são removidos através de telas e sopradores. Na segunda etapa, os amendoins colhidos são dispostos em instalações com ventiladores, onde são secos a 35 °C até 10% de umidade. Os amendoins são amadurecidos conforme a cor da pele se aproxime da cor de uma amostra representativa e depois são debulhados, classificados e torrados (podendo ser a seco ou a óleo). Os lotes podem ser armazenados em temperaturas abaixo de 10 °C, em umidade relativa abaixo de 10%. Amendoins sem cascas podem ser armazenados por até 18 meses, enquanto amendoins com cascas suportam até 24 meses de armazenamento. Um dos pontos críticos de controle no processamento do amendoim é a torrefação, a seco ou a óleo. Na torra a seco, os fornos podem atingir temperatura de 400 °C, porém a temperatura usual de torra do amendoim é de 160 °C por aproximadamente de 25 a 60 minutos (tempo de torra varia com as propriedades do lote e as características do produto final). Na torra a óleo, o amendoim é escaldado e depois frito na temperatura de 140 °C por 3 a 10 minutos. O amendoim torrado tem umidade de aproximadamente 1,25%. Na terceira etapa o processamento varia de acordo com o produto final e pode compreender mistura, moagem, prensagem, cobertura, aquecimento (até 100 °C), resfriamento e envase (CHANG et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2018). O aumento no processamento de amendoim amplia a geração de subprodutos como casca, pele e a torta (oriunda da produção do óleo) de amendoim. Com isso, políticas de sustentabilidade industriais devem ser desenvolvidas a fim do reaproveitamento desses resíduos.

Figura 3 - Cadeia produtiva do amendoim, composta pelos processos primários, secundários e terciários.



Fonte: Autor

### 1.1.2.1 CASCA DE AMENDOIM

A casca, que compreende cerca de um terço da massa da vagem, é obtida após a remoção da semente (juntamente com a pele) (PANDEY et al., 2018). Na África do Sul, aproximadamente 22.000 toneladas de casca de amendoim são geradas anualmente durante o processamento de amendoim (ARUMUGAM et al., 2018). Esse resíduo, com taxa de degradação muito lenta sob condições naturais (DUC et al., 2019), usualmente é descartado em aterros sanitários, ou comercializado para alimentação animal, utilizados como fertilizantes ou como suporte de biofiltros. Como a quantidade desse subproduto é grande, parte das cascas é queimada, resultando em poluição ambiental (ADHIKARI et al., 2018; DUC et al., 2019).

Por apresentar quantidades significativas de proteína, gordura, carboidrato e minerais, novas tecnologias foram desenvolvidas visando o reaproveitamento da casca de amendoim, possibilitando seu uso na produção de rações e de papel, e para a geração de bioenergia (ADHIKARI et al., 2018). Na área alimentar, estudos realizados por Yu et al. (2014) detectaram a presença de polifenóis, flavonoides, luteína, caroteno e iso-saponaretina na casca do amendoim, e essa rica composição sugere que estudos devem ser desenvolvidos para recuperação e utilização desses compostos, contribuindo para a economia circular.

Na área farmacêutica, Lee et al. (2019) demonstraram que extratos da casca de amendoim aliviaram significativamente os sintomas de doenças inflamatórias intestinais em ratos. Com isso, estudos devem ser realizados para possibilitar a utilização desses extratos como um agente anti-inflamatório para a prevenção da colite em humanos.

Garg et al. (2019) utilizaram carvão ativado à base de cascas de amendoim para remoção de corante Amarelo Metanil – 36 (AY-36), utilizados em sabonetes, verniz, corantes para couro e para fabricação de pigmentos na industrial têxtil, de águas residuais, o mesmo se mostrou um potencial adsorvente, permitindo seu uso comercial no tratamento de águas residuais contendo o corante Amarelo Metanil -36 (AY-36).

#### 1.1.2.2 PELE DE AMENDOIM

A pele do amendoim, camada não tóxica rosa avermelhada que circunda grão, representa 3% da massa total, também é caracterizada como um subproduto agroindustrial oriundo do processamento do amendoim, cerca de 0,93 milhões de pele de amendoim são produzidas anualmente em todo mundo (LORENZO et al., 2018). Esse subproduto tem aplicações limitadas na indústria devido ao seu baixo valor comercial, sendo destinada a alimentação animal ou até mesmo utilizadas na produção de energia, mas a maioria do seu volume é descartado em aterros sanitários.

De acordo com Yu et al., (2006) a pele de amendoim contém 12% de proteínas, 16% de lipídeos e 72% de carboidrato e uma porção considerável de polifenóis, com quantidades entre 140 a 150 mg g<sup>-1</sup> de matéria prima. Dois dos compostos fenólicos predominantes encontrados na pele de amendoim são a catequina e proantocianidinas (e seus derivados), ambos com alta atividade antioxidante e que atuam na proteção da semente aos danos mecânicos, sendo que o segundo alcança conteúdo de até 17% em

peso (TOOMER et al., 2019). Os compostos bioativos encontrados na pele de amendoim estão apresentados, juntamente com as técnicas de identificação, na Tabela 1.

Em relação à aplicação dos extratos da pele de amendoim em matrizes alimentares, Munekata et al. (2016) produziram e avaliaram hambúrgueres de ovelha incorporados com extratos de pele de amendoim, que apresentaram alto potencial antimicrobiano durante o tempo de estocagem, além de inibir efetivamente a oxidação de lipídeos e proteínas.

Estudos realizados por Sarnoski et al. (2012) tiveram como objetivo examinar o uso de proantocianidinas extraídas da pele de amendoim na inibição de leveduras comumente implicadas na deterioração de sucos de frutas. Esse estudo demonstrou que os extratos da pele de amendoim retardaram o crescimento de três linhagens de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii* e *Zygosaccharomyces bisporus*.

Calomeni et al. (2017) e Yu et al. (2010) avaliaram extratos fenólicos obtidos da pele de amendoim como agente antimicrobiano. Em seus estudos o extrato reduziu o crescimento de *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Tendo em vista a gama de propriedades presentes nesse subproduto, processos verdes de extração devem ser aplicados na extração desses compostos, uma vez que essas tecnologias se apresentam seletivas e de alto rendimento.

Tabela 1 - Compostos bioativos encontrados na literatura para a pele de amendoim.

Propósito do trabalho	Técnica de Identificação	Compostos bioativos identificados	Referência
Extração e fracionamento de antocianinas monoméricas da pele de amendoim visando aplicações industriais	HPLC-DAD	antocianinas, procianidinas e quercetina	Zhao et al. (2017)
Avaliação dos extratos obtidos por fluidos subcríticos de subproduto de gergelim, amendoim e pistache na produção de ergosterol e fumonisina por <i>Fusarium verticillioides</i> .	HPLC-ESI-MS/MS	ácido quínico, catequina, dímeros de proantocianidinas (3 isômeros), dímeros de procianidinas tipo A (10 isômeros), ácido caféico, dihidroxicumarina, luteolina, quercetina, éter metílico de luteolina, crisina, geniteína, éter metílico de isoramentina	Bodoira et al. (2019)
Comparação dos perfis químicos entre amendoins vermelhos e pretos cultivados na China	HPLC	procianidinas	Kuang et al. (2017)
Avaliar a biodisponibilidade das procianidinas e seus derivados da pele do amendoim no plasma de ratos (perfil de lipídeos e ácidos graxos)	UPLC-TOF MS	apigenina, catequina, cis-resveratrol, antocianinas, epicatequina, fisetina, genisteína, hesperetina, kaempferol, miricetina, procianidinas (A2, B1 e B2), quercetina e rutina	Bansode et al. (2014)
Determinar os efeitos do método de remoção da pele de amendoim na composição fenólica	LC/MS	monômeros de procianidinas, dímeros de procianidinas (tipo A e B), trímeros de procianidinas (tipo B), tetrâmeros de procianidinas (Tipo A e B)	Yu et al. (2006)
Avaliar a atividade antiproliferativa das procianidinas extraídas da pele de amendoim no câncer de próstata humano	UPLC-MS/MS	procianidinas (B1, B2 e B3)	Chen et al. (2018)
Avaliar o perfil fenólico e antioxidante em extratos etanoicos oriundos da pele de amendoim e seus efeitos quando adicionados em hambúrguer de ovelha	HPLC-ESI-MS	proantocianidinas e ácidos fenólicos	Munekata et al. (2016)
Comparar o perfil de proantocianidinas extraídas da casca de amendoim e <i>cranberry</i>	HPLC e MALD-TOF MS	proantocianidinas (Tipo A e B)	Ye e Neilson (2016)
Determinar as composições em aminoácidos, minerais, perfil de ácidos graxos e proantocianidinas de três variedades de pele amendoim	CG-FID	ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2), ácido araquídico (C20:0), ácido eicosenóico (C20:1), ácido behênico (C22:0) e ácido lignocérico (C24:0)	Muñoz-Arrieta et al. (2021)
Desenvolver abordagens para o uso da pele de amendoim	CG-FID	ácido palmítico (C16:0), ácido palmitoléico (C16:1), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1), ácido linoleico (C18:2), ácido araquídico (C20:0), ácido eicosenóico (C20:1), ácido behênico (C22:0) e ácido lignocérico (C24:0)	Sobolev e Cole (2004)

---

<p>Determinar as composições em aminoácidos, minerais, perfil de ácidos graxos e proantocianidinas de três variedades de pele de amendoim</p>	<p>LC-MS/MS</p>	<p>aminoácidos essenciais: histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina; aminoácidos não essenciais: alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, cisteína, glicina, ácido glutâmico, glutamina, prolina, serina e tirosina</p>	<p>Muñoz-Arrieta et al. (2021)</p>
---	-----------------	--	------------------------------------

---

Fonte: Adaptado de Bansode et al. (2014); Bodoira et al. (2019); Chen et al. (2018); Kuang et al. (2017); Munekata et al. (2016); Muñoz-Arrieta et al. (2021); Sobolev e Cole (2004); Ye e Neilson (2016); Yu et al. (2006) e Zhao et al. (2017)



## 2 RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A extração é uma das operações unitárias mais importantes para a separação de compostos de interesse de uma variedade de matrizes vegetais, sendo elas sólidas ou líquidas, por meio de processos físicos, químicos ou mecânicos (CHEMAT et al., 2019; OJHA et al., 2020; ESSIEN et al., 2020). O processo de extração é composto pelo pré-tratamento da matéria prima, no qual várias operações unitárias podem ser aplicadas, como secagem, trituração, padronização do tamanho de partículas, entre outras, seguido da extração propriamente dita. Por fim, é realizada a remoção do solvente do composto de interesse (geralmente compostos bioativos), o pós-tratamento do extrato também é uma alternativa, como filtração, concentração, filtração, entre outros.

É válido ressaltar que a técnica de extração escolhida para a obtenção de compostos bioativos desempenha um papel significativo na qualidade do produto final, assim como a escolha do solvente utilizado. Nesse contexto, um estudo detalhado da afinidade química, polaridade, solubilidade de cada solvente e/ou cossolvente adquire extrema relevância nesse processo (ESSIEN et al., 2020). Li et al. (2019) afirmam que outro aspecto que deve ser levado em consideração são as preocupações ambientais e econômicas. Em outras palavras, o método de extração e o solvente utilizado estão diretamente relacionados ao rendimento e a composição dos extratos.

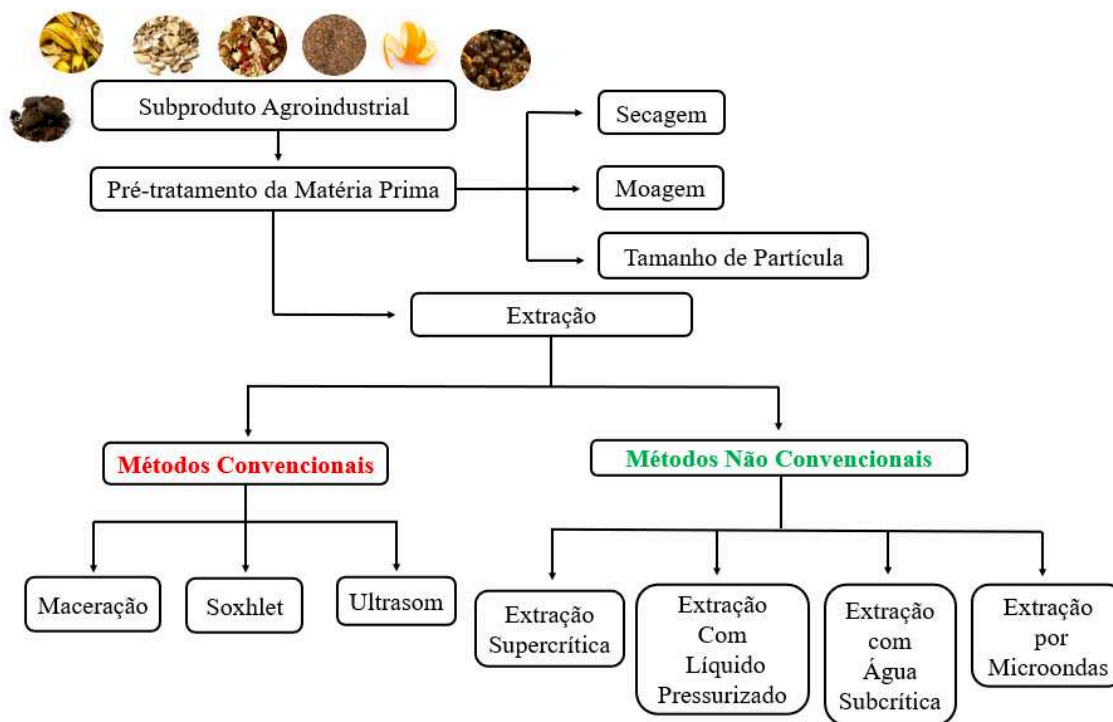
Apesar dos métodos de extração serem diversos, todos buscam atingir os mesmos objetivos, extrair compostos de uma matriz complexa e multicomponente, aumentar a concentração dos compostos de interesse, converter o composto bioativo em uma forma mais adequada (facilitando sua detecção e separação) e por fim fornecer um método forte e reprodutível para várias matrizes vegetais (AZMIR et al., 2013).

### 2.1 PRÉ-TRATAMENTO DA MATÉRIA PRIMA

O estágio inicial do processo de extração é a preparação das amostras. As matrizes vegetais, seus resíduos ou subprodutos, podem ser obtidos secos ou úmidos e em diversos tamanhos, o que requer uma etapa de padronização para melhorar a eficiência de extração (Figura 4). Muitas vezes a amostra seca é mais adequada, pois a água pode favorecer reações que levam à deterioração do produto. Entretanto é necessário considerar o tempo de secagem para avaliar a viabilidade do processo. Além disso, a água pode atuar como uma barreira à transferência de massa, dificultando a extração do composto de interesse. A redução do tamanho de partícula também é um importante pré-tratamento que aumenta

a área superficial entre a amostra e o solvente de extração, favorecendo o processo de extração (AZWANIDA, 2015; CHEMAT et al., 2019).

Figura 4 - Fluxograma de processos de extração de compostos de alto valor agregado.



Fonte: Autor

## 2.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Os métodos de extração de compostos bioativos podem ser classificados em métodos convencionais e não convencionais, como mostra a Figura 4. Os métodos convencionais são descritos como técnicas clássicas baseadas na aplicação de solventes orgânicos (muitas vezes tóxicos), aplicações de calor ou agitação, como extração assistida por ultrassom, extração Soxhlet e percolação. As principais vantagens destas são a simplicidade e o baixo custo. Entretanto, essas técnicas possuem alguns inconvenientes, como grande tempo de extração, uso de grandes quantidades de solventes, baixa seletividade, além da necessidade de uma técnica de separação do solvente. Muitas vezes com o emprego de altas temperaturas ocorre a decomposição dos compostos de interesse (VIGANÓ e MARTINEZ, 2015).

A crescente necessidade do desenvolvimento de processos de recuperação mais eficientes levou a um interesse mais profundo do aprimoramento de métodos não convencionais. Esses métodos são caracterizados por ser uma alternativa mais econômica,

menos agressiva ambientalmente, que utilizam menor quantidade de solvente, diminuem a degradação da amostra, melhoram a eficiência de extração e a seletividade. Muitos métodos não convencionais utilizam fluidos/líquidos pressurizados, ultrassom, enzimas, pulso elétrico ou micro-ondas. Essas tecnologias não convencionais estão em crescente desenvolvimento sendo utilizadas para a recuperação de compostos nutricionalmente valiosos de resíduos e subprodutos industriais gerados durante o processamento de alimentos. Em alguns casos, a seletividade e a velocidade do processo são consequências das propriedades químicas do solvente, sendo elas controladas com a alteração de alguns parâmetros de extração. Nos processos ideais, o analito deve ter solubilidade máxima no solvente empregado, para que os outros componentes da matriz sejam solubilizados. Em processos reais esse fenômeno não é alcançado. Por esse motivo, diversos estudos procuram otimizar relações entre diferentes solventes e a vazão de alimentação, tamanho de partícula, temperatura, pressão e o tempo de extração (KOUBAA et al., 2015; LI et al., 2019; ROSELLÓ-SOTO et al., 2015; VIGANÓ e MARTINEZ, 2015).

Chemat et al. (2019) chamam a atenção para a importância das “extrações verdes”, listando seus princípios: (1) inovação no uso de recursos vegetais renováveis, com a aplicação de sucessivas extrações, por diferentes técnicas, a partir da mesma matéria-prima; (2) uso de solventes alternativos, sendo preferível a água ou solventes verdes, embora os solventes orgânicos apresentem muitas vantagens, sua substituição reduz danos ao meio ambiente; (3) redução do consumo de energia e uso de tecnologias inovadoras, para isso é preciso otimizar o processo de extração e/ou adequar os processos já existentes a outras matérias primas.

### 2.2.1 EXTRAÇÃO SOXHLET

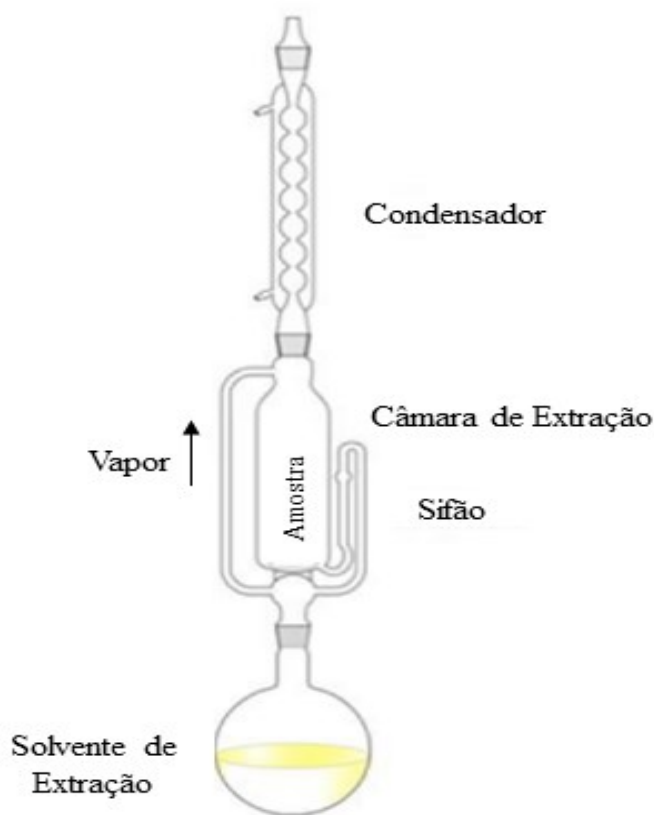
O extrator Soxhlet foi desenvolvido em 1879 por Von Soxhlet, técnica a qual vem sendo considerada como um método padrão por mais de um século. Nessa técnica, a seletividade é unicamente influenciada pela escolha do solvente (CASTRO e PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Nesse método, a amostra pré-tratada (secagem, moagem, entre outros) é inserida em um recipiente poroso feito de papel filtro resistente ou de celulose, o qual é colocado em uma câmara no extrator (Figura 5). O solvente é aquecido no balão inferior, onde vaporiza e percorre um duto externo, qual o leva até uma câmara, localizada próxima ao condensador. Então, o vapor condensa e goteja sobre a amostra, até alcançar a altura

limite do sifão (Figura 5), mantendo a amostra mergulhada no solvente até o momento em que escoar pelo sifão, e então o conteúdo líquido é esvaziado no balão inferior, repetindo-se continuamente (AZWANIDA, 2015; GARAVAND et al., 2019).

A extração por Soxhlet é um método contínuo, com recirculação de solvente, o que facilita o equilíbrio da transferência e aumenta a eficiência da extração. Além disso, possibilita a realização de várias extrações simultâneas, por conta do baixo custo do equipamento (CASTRO e PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Figura 5 - Extrator Soxhlet tradicional



Fonte: Adaptado de Hirondart et al. (2020)

A extração Soxhlet apresenta diversas vantagens: a amostra está sempre em contato com o solvente de extração; recirculação do solvente, que aumenta o coeficiente de partição e a eficiência da extração; não há necessidade de filtração para separação da matéria-prima do solvente ao término da extração; a metodologia é simples; e o equipamento apresenta baixo custo (CASTRO e PRIEGO-CAPOTE, 2010; HELENO et al., 2016).

Em contrapartida, o solvente utilizado é inflamável e perigoso, com potenciais emissões tóxicas durante a extração. Os solventes utilizados na extração Soxhlet devem conter um alto grau de pureza, o qual requer um maior custo. O processo de extração é considerado não amigável ambientalmente, podendo contribuir com a poluição ambiental (AZWANIDA, 2015). Além disso, outras desvantagens devem ser consideradas, como o longo tempo de processo, que pode variar de 1 a 72 horas; a elevada quantidade de solvente empregada, necessitando de uma etapa posterior de eliminação do solvente após a extração, o que exige grande dispêndio de energia, e ainda torna-se um problema ambiental pelo descarte inadequado dos resíduos; além do risco da decomposição térmica dos compostos extraídos, já que, durante a extração, o balão que contém o solvente e os compostos já solubilizados é mantido na temperatura de ebulição do solvente (CASTRO e PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Extrações Soxhlet com n-hexano foram utilizadas por Larrauri et al. (2016) para avaliação da atividade antioxidante de extratos obtidos através da pele de amendoim oriundas de processos de branqueamento e torra. Os extratos obtidos apresentaram alta capacidade antioxidante, sugerindo sua aplicação em matrizes alimentares visando a diminuição da oxidação lipídica e conseqüentemente aumentando a vida de prateleira de produtos alimentares.

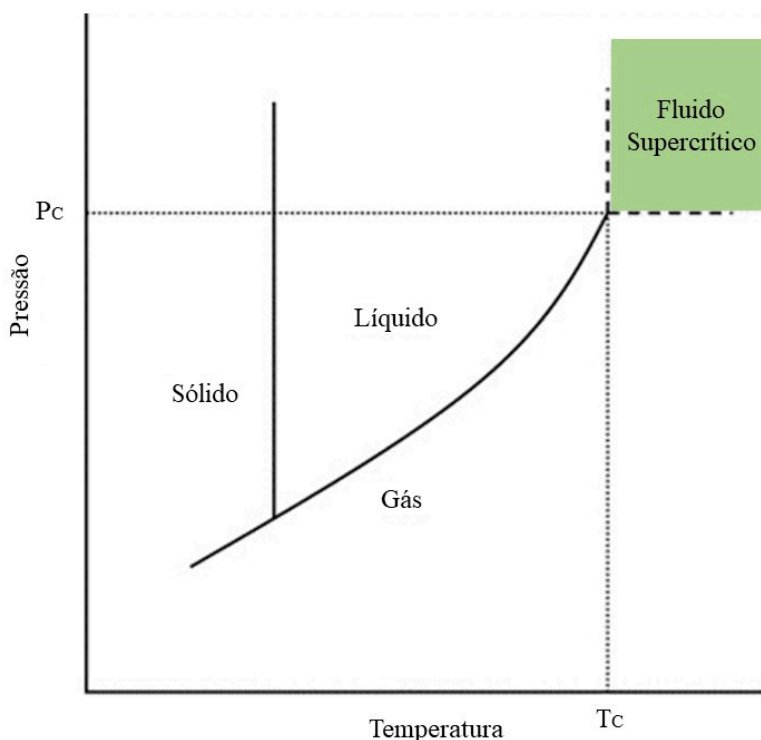
## 2.2.2 MÉTODOS NÃO CONVENCIONAIS DE EXTRAÇÃO

### 2.2.2.1 EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO (SFE)

A extração supercrítica (do inglês, *Supercritical Fluid Extraction*) é uma operação unitária que emprega fluidos em condições acima de temperatura e pressão críticas como solventes de extração (ANDRADE et al., 2012; ESSIEN et al., 2020; MATOS et al., 2019; MENDONÇA et al., 2019; ROSELLÓ-SOTO et al., 2015; SALDAÑA et al., 2015; YOUSEFI et al., 2019). Nestas condições, a separação entre líquido e gás desaparece, surgindo assim o fluido supercrítico. As variações das propriedades acima do ponto crítico causam diferentes efeitos em solutos e solventes (Figura 6). Propriedades como a viscosidade e difusividade são modificadas permitindo que o fluido supercrítico se difunda facilmente através de um material vegetal, auxiliando a dissolução de compostos (ESSIEN et al., 2020; MATOS et al., 2019; MENDONÇA et al., 2019; YOUSEFI et al., 2019).

A extração com fluido supercrítico, em escala industrial, teve seu início na Alemanha, no ano de 1979, com o processo de remoção de cafeína do café. O processo se destacou devido à utilização de uma tecnologia limpa, sem resíduos, uso de solventes não-tóxicos, extração de produtos de alta qualidade e manutenção das propriedades organolépticas do produto (NEVES e MOHAMED, 1997). Atualmente extrações com fluidos supercríticos já são aplicadas nas indústrias farmacêutica, alimentícia e têxtil. A literatura mostra que os fluidos supercríticos já possuem uma vasta aplicabilidade, no campo de reações químicas e bioquímicas (YANG et al., 2019), para síntese de novas matérias e novos suportes de catalisadores, como aerogéis (NEŠIĆA et al., 2018), técnicas especiais de separação, como cromatografia supercrítica (VOROBELI et al., 2019), processos de extração (CRUZ et al., 2017), formação de partículas (DONG et al., 2019; KAVITAKE et al., 2019), inativação microbiana (GONZÁLEZ-ALONSO et al., 2019), impregnação de polímeros (VILLEGAS et al., 2019) e no desenvolvimento de membranas líquidas iônicas (LIU et al., 2018).

Figura 6 - Diagrama esquemático de Pressão-Temperatura de uma substância pura.



Fonte: Adaptado de Herrero et al. (2006)

O dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) é o solvente supercrítico mais empregado devido a três razões principais, primeiramente o  $\text{CO}_2$  é inócuo para a saúde humana e para o meio

ambiente, respeitando os critérios de sustentabilidade que regem cada vez mais a adequação dos processos químicos. Segundo, seu ponto crítico é encontrado a uma temperatura próxima à temperatura ambiente (31,2 °C) e uma pressão relativamente moderada (7,3 MPa) sendo fundamental para a preservação dos compostos bioativos presentes nos extratos. Como o CO<sub>2</sub> é um gás a temperatura ambiente, quando a extração é concluída e o sistema descomprimido, o CO<sub>2</sub> é eliminado do extrato, não precisando de processos complementares de eliminação do solvente (SILVA et al., 2016). Em escalas industriais, quando o consumo de dióxido de carbono é alto, a operação pode ser controlada para um reciclo, reutilizando-o em diversos processos.

O CO<sub>2</sub> é não polar, podendo substituir um dos solventes tóxicos mais utilizado, o hexano. A solubilidade de compostos em dióxido de carbono supercrítico (SC-CO<sub>2</sub>) depende da polaridade, peso molecular e da estrutura do composto. Componentes com baixa massa molecular e baixa polaridade podem ser extraídos facilmente a baixas pressões. Compostos com polaridade de moderada a alta são quase insolúveis em SC-CO<sub>2</sub>. Para superar esse problema, utilizam-se modificadores, também conhecidos como cossolvente (MIEKUS et al., 2019).

Os cossolventes, adicionados ao solvente normalmente em pequenas quantidades, podem induzir mudanças substanciais nas propriedades do CO<sub>2</sub> puro (SILVA et al., 2016). A adição de cossolvente visa aumentar o rendimento de extração, ajustando a afinidade do CO<sub>2</sub> a substâncias com baixa solubilidade, compostos polares (ESSIEN et al., 2020). Entretanto, Lima et al. (2019) verificaram que a adição de 5% de metanol aumentou 40% o rendimento de extração de pipericalosidina das folhas de pimenta, em comparação ao SC-CO<sub>2</sub> puro.

Os solventes mais utilizados como modificadores em processos SFE são o metanol e etanol, que são capazes de realizar interações do tipo dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio com moléculas polares do material vegetal. O etanol, assim como o CO<sub>2</sub>, apresenta baixa toxicidade, comparado com outros solventes, além de apresentar baixa miscibilidade no CO<sub>2</sub> e facilidade de separação do produto final, por meio de destilação e evaporação (ESSIEN et al., 2020).

A extração com SC-CO<sub>2</sub> é considerada uma tecnologia limpa, sendo este um solvente GRAS (*Generally Recognized as Safe*), seus extratos são naturais e aceitos para aplicação em alimentos. Além disso, o alto gradiente de pressão entre a coluna de extração e a saída do extrator pode produzir extratos livres de micro-organismos e esporos, com

maior vida útil quando comparados aos extratos obtidos por processos a baixa pressão (POREBSKA et al., 2017).

Os parâmetros de processo como temperatura, pressão, vazão de solvente, tamanho de partícula e uso de cossolvente são os principais fatores que afetam a eficiência do processo SFE. A combinação correta desses parâmetros tem um impacto significativo no rendimento da extração, reduzindo perdas de amostras, levando a uma redução no tempo de extração e conseqüentemente diminuindo gastos energéticos (ESSIEN et al., 2020; YOUSEFI et al., 2019). O tamanho das partículas afeta a área de contato entre as fases, menores partículas aumentam a área interfacial específica e reduzem o caminho a ser percorrido pelo soluto na difusão. Partículas pequenas também podem trazer desvantagem ao processo pois se aglomeradas podem gerar caminhos preferenciais, causando redução significativa na eficiência de extração (DIAS et al., 2019; YOUSEFI et al., 2019).

Pressão e temperatura são os parâmetros mais relevantes da SFE pois definem a densidade do solvente e conseqüentemente o poder de solvatação deste, controlando assim a solubilização do soluto presente na matriz sólida. Para qualquer dada temperatura, um aumento na pressão leva a um aumento da densidade do fluido supercrítico, a qual é diretamente proporcional à solubilidade do soluto, aumentando assim o rendimento da extração. Uma maior recuperação de frações voláteis é obtida a altas pressões, sendo assim a composição do extrato é controlada alterando os valores de pressão (ESSIEN et al., 2020; KNEZ et al., 2019; LI e XU, 2019; YOUSEFI et al., 2019).

O efeito da temperatura do fluido supercrítico também é relevante, uma vez que um aumento da temperatura em processo isobárico, reduz o poder de solvatação do fluido, reduzindo assim as taxas de extração. A temperatura exerce um efeito duplo em extrações supercríticas, aumentando a temperatura de extração a pressão de vapor do soluto aumenta, que contribui para aumentar a solubilização do soluto. Esses efeitos contrários da temperatura na solubilidade do soluto representam o fenômeno de retrogradação. A temperatura adequada para se obter um alto rendimento de extração exigirá uma análise mais robusta dos dois efeitos (ESSIEN et al., 2020; YOUSEFI et al., 2019).

Os mecanismos de transferência de massa, convecção e difusão na SFE de matrizes naturais podem ser descritos por modelos empíricos, que permitem a representação das curvas globais de extração (FERREIRA et al., 1999). Sovová (1994), propôs um modelo geral de SFE de óleos a partir de matrizes vegetais, no qual foram



estabelecidas três etapas para o processo de extração, representando os diferentes mecanismos de transferência de massa:

- 1. Período de Taxa de Extração Constante - *Constant Extraction Rate (CER)*:** nesta etapa ocorre a remoção do soluto de fácil acesso (aquele que recobre a superfície externa das partículas ou daqueles liberados pelo rompimento das paredes celulares no pré-tratamento, ex. moagem) a uma velocidade aproximadamente constante, nessa fase há o predomínio da transferência de massa por convecção na fase fluida.
- 2. Período de Taxa de Extração Decrescente – *Falling Extraction Rate (FER)*:** já nesta etapa advém a resistência à transferência de massa na interface sólido-fluido, devido a falhas na camada superficial de soluto que recobre as partículas, nesta etapa tanto o soluto exposto como uma porção contida nas células se transferem. Os efeitos convectivos na fase fluida quanto os difusionais na fase sólida determinam a velocidade de extração.
- 3. Período Difusional – *Diffusion Controlled (DC)*:** nesta etapa é evidente o esgotamento do soluto que recobre a superfície das partículas, e ocorre apenas a transferência do soluto do interior das partículas para o seio do fluido. Assim, o processo de extração é controlado pela difusão do solvente para o interior das partículas e da difusão do conjunto soluto-solvente para a superfície das partículas, predominando nesta fase o fenômeno difusivo no sólido.

O detalhamento das etapas e equacionamento do modelo propostos por Sovová (1994) pode ser visto no Anexo I.

#### 2.2.2.2 EXTRAÇÃO POR LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)

A Extração por Líquido Pressurizado (do inglês *Pressurized Liquid Extraction*), uma alternativa às técnicas de extração com solvente à baixa pressão, é considerado mais ecológico (*greener process*) quando comparado aos métodos convencionais por ser um processo mais rápido e demandar menor uso de solvente, além de serem normalmente empregados solventes não tóxicos (RUDKE et al., 2019).

A primeira apresentação do PLE se deu em 1995 para a extração de contaminantes de solos e lodos de esgotos. Atualmente seu uso possui uma vasta aplicabilidade, incluindo polímeros, plásticos produtos farmacêuticos, tecidos animais e vegetais (WIANOWSKA e GIL, 2019).

Esta técnica envolve solventes líquidos a altas temperaturas (25 a 200 °C) e pressões (3 a 200 bar), mas garantindo o solvente em seu estado líquido, o que aumenta o desempenho de extração em comparação às extrações a baixa pressão. (MUSTAFA e TURNER, 2011). As condições empregadas no PLE garantem maior solubilidade do soluto no solvente, diminuição da densidade do solvente e a sua tensão superficial, aumentando assim as taxas de transferência de massa (HERRERO et al., 2015; HERRERO et al. 2013; MUSTAFA e TURNER, 2011).

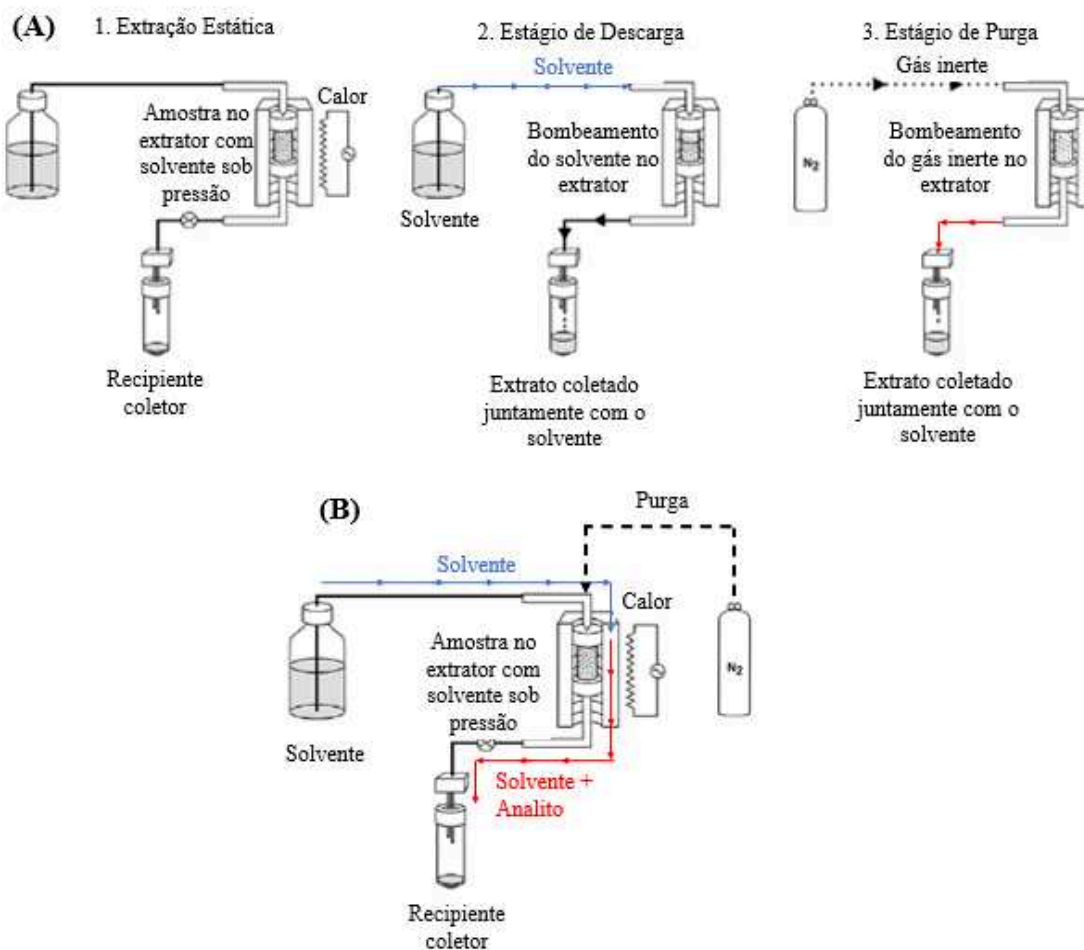
A técnica PLE é relativamente simples e pode ser aplicada no modo estático, Figura 7 (a) e no modo dinâmico, Figura 7 (b). O modo estático envolve três etapas consecutivas. Primeiramente a amostra é carregada no recipiente extrator, então, a amostra é extraída por um solvente pré-selecionado em condições de temperatura e pressão pré-definidas por tempo definido. Na sequência um solvente é bombeado através do recipiente extrator para remover o extrato obtido e remover a amostra com uma porção nova do solvente, essa etapa é denominada estágio de descarga. Por fim, o recipiente extrator é purgado por um gás inerte (geralmente o gás hélio) para garantir a expulsão completa do solvente, etapa denominada como estágio de purga (WIANOWSKA e GIL, 2019). No modo dinâmico o solvente é bombeado continuamente através do extrator que contém o soluto.

A literatura demonstra que extrações realizadas com etanol pressurizado como solvente vêm sendo utilizadas na recuperação de compostos polares, com sucesso na obtenção de polifenóis, alcaloides e proantocianidinas (OKIYAMA et al., 2018), compostos encontrados em subprodutos do processamento do amendoim (ADHIKARI et al., 2018; BANSODE et al., 2014; LORENZO et al., 2018; MA et al., 2017; PANDEY et al., 2018; PIZZOLITTO et al., 2013).

Panja (2018) afirma que a temperatura máxima no PLE depende do solvente e dos compostos a serem recuperados da matriz, pois altas temperaturas podem degradar componentes ativos ou dissolver compostos indesejáveis. Altas temperaturas favorecem a ruptura das ligações soluto-matriz, melhorando a penetração do solvente na matriz sólida (CARDENAS-TORO et al., 2015) e a difusão do soluto até a superfície da matriz. A seleção do solvente, no PLE deve ser baseada na afinidade com o soluto, valorizando, quando possível o uso de “GRAS” (*Generally Recognized as Safe*) como água, etanol e suas misturas (RUDKE et al., 2019).

Como um exemplo de aplicação dessa técnica, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Mazzutti et al. (2018) para a obtenção de extratos da casca de cacau (previamente tratados com ESC) ricos em compostos fenólicos com potente atividade antioxidante por PLE a 10 MPa e 70 °C, utilizando etanol como solvente.

Figura 7 - Estágios da extração estática (a) e dinâmica (b) por líquido pressurizado.



Fonte: Adaptado de Wianowska e Gil (2019)

### 2.2.2.3 EXTRAÇÃO COM ÁGUA SUBCRÍTICA (SWE)

Além das extrações com fluidos supercríticos e com líquidos pressurizados, a extração com água subcrítica (do inglês, *Subcritical Water Extraction*) também se apresenta como um método de extração não convencional capaz de extrair compostos polares, moderadamente polares e apolares. Caracterizada como uma técnica ecologicamente amigável, por utilizar água como solvente “verde”, de baixo custo e prontamente disponível, essa técnica utiliza as propriedades da água subcrítica, com temperaturas na faixa de 100 a 250 °C e pressões de 1 a 10 MPa, condições ligeiramente

abaixo do ponto crítico da água (374 °C e 220 bar) (ESSIEN et al., 2020). A melhora no poder de solubilização da água aumenta a transferência de massa e a eficiência de extração. O aumento da temperatura, assim como na extração com líquido pressurizado, faz com que as interações (ligações de hidrogênio, forças de van de Waals e atrações dipolo-dipolo) soluto-matriz (interações adesivas) se rompam, liberando o soluto para ser “carregado” pela água no seu estado subcrítico (ZHANG et al., 2020). No entanto, em altas temperaturas, os compostos termicamente instáveis são degradados. Esse fenômeno inconveniente é superado pelo aumento da pressão e reduzido tempo de extração. A presença de altas pressões pode facilitar a quebra da estrutura vegetal e o arraste da água em poros de difícil acesso, aumentando assim o rendimento de extração (TEO et al., 2010).

Como desvantagens da SWE citamos a possibilidade de degradação térmica de compostos termolábeis e a dificuldade da remoção da água da amostra, que requer etapas adicionais de evaporação, desidratação química ou precipitação (ZHANG et al., 2020).

As extrações com água subcrítica podem ser do tipo estáticas e dinâmicas. O modo estático é considerado o mais simples, entretanto o tempo de residência da amostra na coluna é muito longo, comparado com o modo dinâmico, podendo causar degradação do soluto e a saturação do solvente (BODOIRA et al., 2019; GALLEGO et al., 2019; HERRERO et al., 2013; ZHANG et al., 2020). O modo dinâmico é caracterizado pelo fluxo constante do solvente. Nesse caso, o tempo de residência do analito em contato com a água em altas temperaturas é curto, evitando a degradação do soluto. Como desvantagem do uso da água subcrítica no modo dinâmico pode se citar o alto custo do equipamento e a possibilidade do entupimento da tubulação durante a extração (CARR et al., 2011; ESSIEN et al., 2020; RODRIGUES et al., 2019; XU et al., 2020).

Na temperatura ambiente e pressão atmosférica a água é altamente polar devido à sua alta constante dielétrica, explicada pelo alto número de ligações hidrogênicas (TEO et al., 2010). Diferente dos solventes polares, a água é leve no estado gasoso e muito mais densa no estado líquido. Muitos dos seus atributos únicos se devem ao fato de existir duas ligações de hidrogênio, com o aumento da pressão e temperatura essas ligações se rompem, mudando suas propriedades (ZHANG et al., 2020).

A Tabela 2 lista algumas propriedades químicas e físicas da água importantes quando tomamos a água como solvente de extração (PLAZA e TURNER, 2015). Muitas dessas propriedades mudam drasticamente com a variação da temperatura.

Como observado na Tabela 2, uma das mudanças mais drásticas causada pelo aumento da temperatura é a permissibilidade relativa, indo de 78,5 a 25 °C para 14,1 a 350 °C. Além da recuperação de compostos com características polares, a água em temperatura próxima do ponto crítico tem capacidade de dissolver compostos hidrofóbicos, devido ao aumento da temperatura e a redução das interações eletrostáticas, entre água-água e água-soluto (causada pelo movimento de rotação das moléculas de água). Compostos menos polares também podem ser extraídos, devido ao enfraquecimento das ligações de hidrogênio, o qual favorece as ligação dipolo-dipolo. Comparativamente a outros solutos, água subcrítica a uma faixa de temperatura de 200-275°C possui a mesma permissibilidade relativa que o etanol e metanol a pressão e temperatura ambientais (CARR et al., 2011).

Tabela 2 - Propriedades químicas e físicas da água líquida em diferentes temperaturas e pressões de saturação.

Propriedade	25 °C	100 °C	200 °C	350 °C
	0,1 MPa	0,1 MPa	1,5 MPa	17 MPa
Constante de ionização, Kw	$1,0 \times 10^{-14}$	$5,6 \times 10^{-13}$	$4,9 \times 10^{-12}$	$1,2 \times 10^{-12}$
pKw	13,99	12,25	11,31	11,92
Permissibilidade relativa, $\epsilon_r$	78,5	55,4	34,8	14,1
Momento dipolo	1,85	1,85	1,85	1,85
Calor específico a pressão constante, $C_p$ (J g <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )	4,18	4,22	4,51	10,1
Entalpia de vaporização, $H_v$ (KJ/mol)	44,0	40,7	35,0	15,6
Densidade (g cm <sup>-3</sup> )	0,997	0,958	0,865	0,579
Viscosidade dinâmica, $\eta$ (mPa s)	0,891	0,282	0,134	0,067
Tensão superficial (dyn cm <sup>-1</sup> )	72,0	58,9	37,6	3,7
Coefficiente de difusão, D (m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	$2,3 \times 10^{-9}$	$8,6 \times 10^{-9}$	$23,8 \times 10^{-9}$	-

Fonte: Adaptado de Plaza e Turner (2015)

Como observado na Tabela 2, uma das mudanças mais drásticas causada pelo aumento da temperatura é a permissibilidade relativa, indo de 78,5 a 25 °C para 14,1 a 350 °C. Além da recuperação de compostos com características polares, a água em temperatura próxima do ponto crítico tem capacidade de solubilizar compostos hidrofóbicos, devido ao aumento da temperatura e a redução das interações eletrostáticas, entre água-água e água-soluto (causada pelo movimento de rotação das moléculas de água). Compostos menos polares também podem ser extraídos, devido ao enfraquecimento das ligações de hidrogênio, o qual favorece as ligação dipolo-dipolo.

Comparativamente a outros solutos, água subcrítica a uma faixa de temperatura de 200-275 °C possui a mesma permissibilidade relativa que o etanol e metanol a pressão e temperatura ambientais (CARR et al., 2011).

A temperatura é o principal fator que deve ser levado em consideração em processos SWE, sendo que o seu aumento leva a um aumento da difusividade, diminuição da viscosidade e por sua vez uma diminuição da tensão superficial. Além disso, a mudança da polaridade da água, permitindo a extração de compostos de polaridade média. No entanto, altas temperaturas podem degradar compostos termolábeis, formar compostos indesejáveis por meio de reações de Maillard, reações de oxidação e hidrólises (KHUWIJTJARU et al., 2014).

Como observado na Tabela 2, a constante de ionização da água ( $K_w$ ) aumenta drasticamente com o aumento da temperatura (de  $1 \times 10^{-14}$  a 25 °C para  $4,9 \times 10^{-12}$  a 200 °C). Em outras palavras, em altas temperaturas, a água é uma fonte de íons, como hidrônio ( $H_3O^+$ ) e hidroxilas, os quais catalisam reações, incluindo hidrólises de polissacarídeos e proteínas em moléculas de menor tamanho (por exemplo, oligossacarídeos, monossacarídeos, peptídeos e aminoácidos) (SEREEWATTHANAWUT et al., 2008). Essas moléculas (de menor tamanho) são mais susceptíveis a essas reações. Além disso, com o aumento da temperatura pode estar diretamente relacionado com o aumento da seletividade, levando a extração de compostos indesejáveis e a necessidade da sua separação após o processo de extração (JENTZER et al., 2015).

A pressão tem um efeito insignificante na SWE. Mudanças na pressão levam a mudanças de fases da água, e pressões moderadas, como 15 bar (a 200 °C) e 85 bar (a 300 °C) são requeridas para manter a água no estado líquido (CARR et al., 2011).

Outro fator de extrema importância na otimização de extrações com água subcrítica é o fluxo do solvente. O seu aumento diminui o tempo de residência do soluto na coluna, diminuindo a degradação dos compostos termolábeis, levando ao aumento da eficiência de extração (PLAZA e TURNER, 2015). Entretanto, vazão do solvente em excesso pode levar a uma diluição do extrato, requerendo assim uma etapa adicional de concentração após a extração. Outros fatores, como tempo de extração, qualidade do extrato e fatores econômicos, devem ser levados em consideração para determinar a proporção ideal do solvente (ZHANG et al.; 2020).

O tamanho de partícula também deve ser levado em consideração em SWE. De acordo com Munir et al. (2018) a diminuição do tamanho de partícula aumenta a superfície de contato entre o solvente e a amostra, reduzindo o tempo de extração e levando a um aumento da eficiência de extração.

Diferente de outras técnicas de extração, alguns trabalhos afirmam que amostras com alto teor umidade apresentaram um maior rendimento na extração de polifenóis, quando comparados com amostras previamente secas (MONRAD et al., 2012; MONRAD et al., 2014; RAJHA et al., 2014).

Apesar das variáveis descritas acima, a adição de modificadores orgânicos e inorgânicos, surfactantes e aditivos podem auxiliar a solubilidade do composto de interesse na água (TEO et al., 2010).

### **3 BIORREFINARIAS APLICADAS A SUBPRODUTOS INDUSTRIAIS**

Impulsionada pelo crescimento do consumo de recursos naturais, a economia circular tem recebido muita atenção nos últimos anos, atuando como uma solução para superar as atuais demandas de consumo. A economia circular pode ser definida como um conceito de sustentabilidade, a qual visa limitar ou impedir o consumo de recursos naturais inexplorados, aumentando a recuperação e o ciclo de vida dos produtos já explorados (GHISELLINI et al., 2016). Para maximizar o aproveitamento da biomassa e minimizar os resíduos oriundos do seu processamento, o conceito de biorrefinaria foi proposto por Cherubini (2010), o qual objetiva-se em produzir de forma eficiente produtos de alto valor agregado a partir de diferentes matérias primas, como biomassa celulósica (SAWATDEENARUNAT et al., 2018), algas (BHOWMICK et al., 2019) e resíduos alimentares (BASTIDAS-OYANEDEL e SCHMIDT, 2018).

Atualmente, o processamento alimentar contribui significativamente para problemas como mudanças climáticas, geração de resíduos, degradação ambiental e desigualdade econômica e é altamente ineficiente, pois uma quantidade significativa de alimentos é desperdiçada ao longo da cadeia de abastecimento alimentar. Como incentivo a solucionar tal problema, as Nações Unidas adotaram uma meta específica nos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, com o objetivo de reduzir pela metade o desperdício alimentar global e reduzir também as perdas de alimentos ao longo das cadeias de produção e abastecimento até 2030 (CALDEIRA et al., 2020). De acordo com Caldeira et al. (2019), cerca de 30 Mt de resíduos não comestíveis são gerados na fase de fabricação

de alimentos na União Europeia. Levando em conta um crescimento anual da população a uma taxa de 4,3% de 2019 a 2024 e uma projeção de U\$ 4,1 para o mercado de processamento de alimentos, espera-se que esse número aumente drasticamente.

Como exposto na seção 1.1.2, a produção e o processamento do amendoim geram subprodutos inutilizáveis, como a pele a casca e a torta (oriundo da produção do óleo), os quais são subestimados pelas indústrias. Por outro lado, esses produtos possuem compostos com alto valor agregado, como compostos fenólicos, oligoproteínas e polissacarídeos, podendo ser reutilizados nas indústrias alimentícias.

Atualmente, diversos autores tem implementado em seus estudos de extração o conceito de biorrefinaria. Por exemplo, Tamkutè et al. (2020) integraram processos de extração sequencial a altas pressões para recuperação de compostos de alto valor agregado de bagaço de *cranberry*. Primeiramente os autores utilizaram CO<sub>2</sub> supercrítico (42,4 MPa, 53 °C por 158 min, extração 1) para recuperação de frações lipídicas (triacilglicerol, ácidos graxos, tocoferol, carotenoides, fitosteróis entre outros), seguido de extração com etanol pressurizado (10,3 MPa, 83 °C, 3 ciclos de 15 min, extração 2), obtendo extratos ricos em compostos fenólicos com alto potencial antioxidante, como proantocianidinas e antocianinas. É válido ressaltar que os autores realizaram uma primeira extração (SFE) a uma temperatura inferior a segunda (PLE). Essa sequência deve ser adotada quando o objetivo se refere a uma abordagem de biorrefino da matéria prima. Altas temperaturas podem acarretar a degradação de compostos termo sensíveis e acarretando uma diminuição no rendimento de extração. Sendo assim, extrações realizadas a baixas temperaturas devem ser priorizadas. Extrações SFE são as primeiras a serem realizadas, uma vez que a temperatura crítica do CO<sub>2</sub> é relativamente baixa, como citado na seção 2.2.2.1. Na sequência, e com incremento da temperatura (temperaturas moderadas), são realizadas extrações PLE, no geral nessas extrações são recuperados compostos fenólicos, com alta capacidade antioxidante. Por fim, deve-se escolher as extrações SWE (últimas do processo), essas por sua vez são realizadas a altas temperaturas e podem degradar inúmeros compostos de interesse. Usualmente, as últimas extrações do processo visam a recuperação de carboidratos, proteínas, minerais e fibras.

Até o momento, nenhum trabalho evidenciou a recuperação de diferentes compostos do subproduto do processamento do amendoim por meio de técnicas combinadas de extração. Esse tema foi abordado na recente publicação do grupo, representado por uma revisão da literatura evidenciando o uso do conceito de biorrefinaria



para valorizar subprodutos do processamento do amendoim, com foco principal na integração de processos a altas pressões (SORITA et al., 2020).

Diante das vantagens dos processos de extração a altas pressões (seção 2.2.2) e dos compostos de alta qualidade identificados nos subprodutos do processamento do amendoim (seção 1.2.1), considerando também a sua importância mundial (seção 1.1.1) e a geração de grandes volumes de subprodutos no seu processamento (seção 1.1.2), a integração de processos (extrações sequenciais) a altas pressões como extração supercrítica, com líquido pressurizado e com água subcrítica, utilizando solventes de diferentes polaridades podem auxiliar na recuperação de diferentes compostos da mesma matéria prima (como por exemplo, fração lipídica, compostos fenólicos e carboidratos), enriquecendo o conceito de biorrefinaria desta.

#### **4 COMPOSTOS FENÓLICOS**

Agroindústrias geram uma quantidade significativa de subprodutos, os quais apresentam compostos com alto valor agregado (peptídeos, carotenoides e compostos fenólicos) com relevantes funções e/ou propriedades bioativas. A indústria de processamento do amendoim tem como subprodutos a casca, a pele e a torta (oriunda da fabricação do óleo). Esses subprodutos, em especial a pele de amendoim, são ricos em compostos fenólicos.

De acordo com Cañadas et al. (2020), os compostos fenólicos são definidos como um grupo de grandes moléculas caracterizadas pelas suas estruturas complexas, baseadas em seus anéis aromáticos. Usualmente são classificados como flavonoides (isoflavonóides, antocianidinas, flavonóis, flavanonas e flavonas) e não flavonoides (ácidos hidroxicinâmicos e hidroxibenzóicos, estilbenoides, lignóides e cumarinas).

Diversos estudos têm identificado em extratos etanólico/aquosos do subproduto do processamento do amendoim, (matéria prima composta majoritariamente pela pele) uma rica composição de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e proantocianidinas, com diferentes graus de polimerização. A possibilidade de extração desses compostos, sugere a possibilidade da produção de ingredientes funcionais, aos quais possam ser introduzidos em diversas matrizes alimentares e/ou utilizados na indústria farmacêutica (LARRAURI et al., 2016; OLDONI et al., 2016; PIZZOLITTO et al., 2013; ROSSI et al., 2020).

Na literatura existem diversos métodos analíticos para quantificar e qualificar o teor de fenólicos totais (métodos espectrofotométricos e cromatográficos), entretanto, as técnicas espectrofotométricas são as mais empregadas. Dentre as vantagens da utilização desses métodos podem ser citadas, i) os reagentes possuem baixos custos e são de fácil acesso; ii) são consideradas análises rápidas; iii) baixas necessidades de padrões analíticos individuais (teor de flavonoides e fenólicos totais); iv) apresentam alta repetibilidade e reprodutibilidade; v) não requerem equipamentos sofisticados e mão de obra altamente treinada; e por fim vi) podem ser aplicadas em diferentes matrizes, tanto nas fases sólidas e líquidas (GRANATO et al., 2016). Contudo, essas técnicas permitem apenas quantificar os valores de compostos fenólicos totais presentes na amostra, sem identificá-los e quantificá-los separadamente.

O método espectrofotométrico mais utilizado para a quantificação de compostos fenólicos totais presentes em uma amostra foi proposto por Singleton e Rossi (1965). Nesse método, um reagente de fenol de Folin-Ciocalteu (coloração amarela) formado por sais de molibdato de sódio e tungstato de sódio é usado juntamente com uma solução de carbonato de sódio (com o objetivo de basificar o meio pH~10-12) gerando o ânion fenolato. Na sequência, uma reação de óxido-redução ocorre entre ânion fenolato e o reagente Folin-Ciocalteu, mudando a coloração da solução de amarelo para azul (complexos de molibdênio-tungstênio), cuja intensidade é proporcional ao número de hidroxilas ou grupos potencialmente oxidáveis dos compostos fenólicos, em um período aproximado de 60 min à temperatura ambiente (em um ambiente isento de luminosidade). Por fim, uma leitura espectrofotométrica é realizada no comprimento de onda de 765 nm (absorção máxima do complexo azul).

#### 4.1 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Os radicais livres são moléculas oxidantes com alta instabilidade por possuírem número ímpar de elétrons externamente à sua órbita, os quais tendem a reagir de maneira rápida a outras moléculas contra as quais colidem retirando elétrons destas substâncias e modificando suas estruturas moleculares. Os radicais livres são produzidos naturalmente através das células do organismo animal por meio de situações como o metabolismo do oxigênio (nomeadamente espécies reativas do oxigênio), o oxigênio sofre redução tetravalente, com adição de quatro elétrons dando origem a H<sub>2</sub>O, neste processo são formados superóxido, hidroperoxila, hidroxila e o peróxido de hidrogênio, que são

intermediários reativos e/ou por meio de ações catalíticas de enzimas. As espécies reativas de oxigênio são continuamente produzidas durante os processos fisiológicos normais e, com isso, podem iniciar a oxidação de membranas lipídicas. As espécies reativas de oxigênio são capazes de danificar biomoléculas cruciais como ácidos nucleicos, lipídios, proteínas e carboidratos e, se não forem inativadas por algum agente antioxidante, tendem a resultar em problemas de saúde (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; ROSSI et al., 2020; YE et al.; 2008).

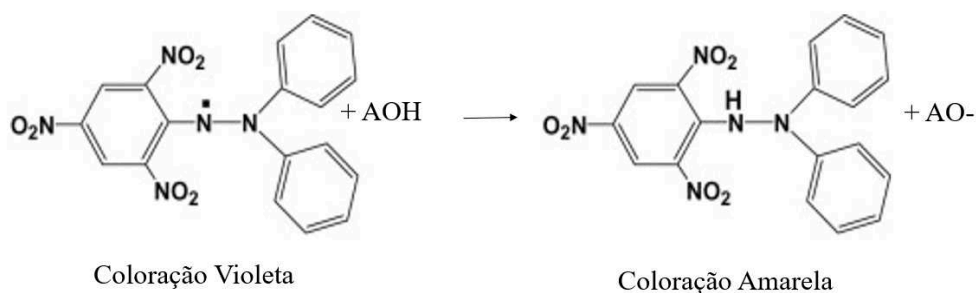
Nos alimentos, predominantemente, ocorrem reações de auto-oxidação em cadeia. O processo de oxidação lipídica é um sério problema em alimentos, pois sua ocorrência produz odores e sabores desagradáveis, diminui o tempo de prateleira do produto, resulta em alterações de coloração e textura, além de diminuir o valor nutricional do produto (BOROSKI et al., 2015).

No que diz respeito a avaliação da capacidade antioxidante de extratos vegetais, pode-se citar os métodos de captura do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazina), do radical ABTS<sup>+</sup>, ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6- sulfônico), de captura do íon férrico (FRAP) e pela descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, sendo esses, também utilizados para avaliação de extratos oriundos do subproduto do processamento do amendoim.

#### 4.1.1 MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH

A metodologia DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazina) tem sido amplamente utilizada em uma gama diversa de extratos oriundos de diferentes fontes, tais como, frutas, chás, ervas aromáticas, plantas medicinais, leguminosas, cogumelos, algas, temperos, entre outros. Tem vantagens como alta sensibilidade (sendo utilizado para identificar antioxidantes de caráter hidrofóbico e hidrofílico) e facilidade de aplicação, o que justifica seu amplo uso (BOROSKI et al., 2015). O radical DPPH apresenta uma coloração roxa intensa e sua reação com outros radicais, elétrons ou átomos de hidrogênio levam à perda da sua coloração. Sua estrutura é formada por dois anéis aromáticos de seis membros ligado a três grupos NO<sub>2</sub> e uma hidrazina, em que o átomo de nitrogênio está ligado diretamente ao anel, este por sua vez possui um elétron desemparelhado, o que caracteriza a espécie como um radical livre, conforme observado na Figura 8, sua capacidade de redução é geralmente avaliada por espectroscopia, usualmente mensurada a uma absorvância de 515 nm (BOROSKI et al., 2015).

Figura 8 - Mecanismo de estabilização do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilidrazina).



AOH: Composto Antioxidante; AO-: Radical Antioxidante Estável

Fonte: Autor

Resumidamente, o método DPPH se baseia na mistura do reagente com a amostra durante duas horas de reação, seguidas de análise de absorvância. De acordo com Pyrzynska e Pękal (2013), os resultados podem ser expressos em diferentes modos, sendo em função do  $EC_{50}$  (a quantidade necessária de antioxidantes na amostra para diminuir a concentração inicial do radical DPPH em 50%), da mudança de absorvância do DPPH comparada à alteração induzida por um composto de referência, incluindo, trolox, ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol, ácido gálico e butilhidroxitolueno (BHT).

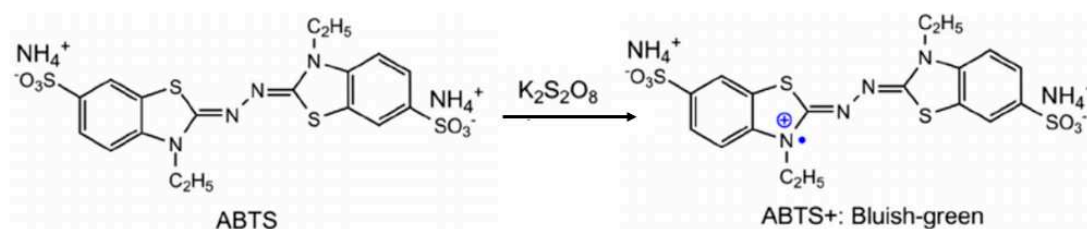
O método do radical DPPH tem sido utilizado por diversos autores para avaliar a atividade antioxidante de extratos oriundos do subproduto do processamento do amendoim, como a casca, a pele e a torta, oriundo da produção do óleo (BRAGA et al., 2016; CAMARGO et al., 2015; MONAGAS et al., 2009; OLDONI et al., 2016).

#### 4.1.2 MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS<sup>+</sup>

O método indireto do sequestro do radical ABTS<sup>+</sup> também é muito utilizado para a avaliação do potencial antioxidante de extratos de subprodutos vegetais. Assim como no método de redução do radical DPPH, o método ABTS é relativamente barato, experimentalmente e instrumentalmente de fácil aplicação, sendo possível obter resultados de maneira rápida e simples. Entretanto, estes radicais apresentam diferenças importantes. O radical DPPH já vem pronto para o uso e é solúvel em solventes orgânicos, enquanto o ABTS necessita ser gerado por reações químicas (como com o persulfato de potássio) ou enzimáticas, e é solúvel em água e também em solventes orgânicos, permitindo a análise de tanto de amostras hidrofílicas, como lipofílicas. Adicionalmente, o reagente não é afetado por força iônica, assim pode ser usado para determinar a capacidade antioxidante de extratos e fluidos corpóreos, hidrofílicos e lipofílicos.

Análogo ao método de redução do radical DPPH, o método ABTS se baseia na interação entre os compostos potencialmente antioxidantes e o radical  $\text{ABTS}^+$  (previamente formado com a adição de persulfato de potássio, como ilustra a Figura 9. Essa reação é facilmente detectada em absorvâncias entre 414 – 815 nanômetros. Na presença de antioxidantes, o átomo de nitrogênio se liga a um átomo de hidrogênio (reação de oxidação), produzindo a descoloração da solução (XIAO et al., 2020).

Figura 9 - Formação do radical  $\text{ABTS}^+$  com a adição do persulfato de potássio.



Fonte: Autor

É importante ressaltar que a absorvância máxima varia de acordo com o solvente utilizado devido ao efeito solvato crômico, por exemplo, ao utilizar o metanol como solvente é preferível a leitura de absorvância no comprimento de onda a 744 ou 745 nm, já com o uso do etanol é preferível a leitura no comprimento de onda de 753 nm. Além disso, o método pode ser usado para soluções com diferentes valores de pH, bem como para o estudo da influência do pH nos mecanismos antioxidantes (ILYASOV et al., 2020).

Diversos autores avaliaram a atividade antioxidante de extratos oriundos da pele do amendoim, dentre eles, Ozer (2017) obtiveram extratos da pele de amendoim ricos em compostos fenólico com um potencial de inibição (obtido pelo método ABTS) de 91,1%. Adicionalmente, Chang et al. (2020), Meng et al. (2020) e Yu et al., (2006) também avaliaram extratos oriundos do subproduto do processamento do amendoim e encontraram resultados promissores (7,29 mmol TE  $\text{g}^{-1}$  extrato, inibição de 55,36% e 66,4 %, respectivamente) com essa técnica.

#### 4.1.3 MÉTODO DE REDUÇÃO DO ÍON FÉRRICO - FRAP

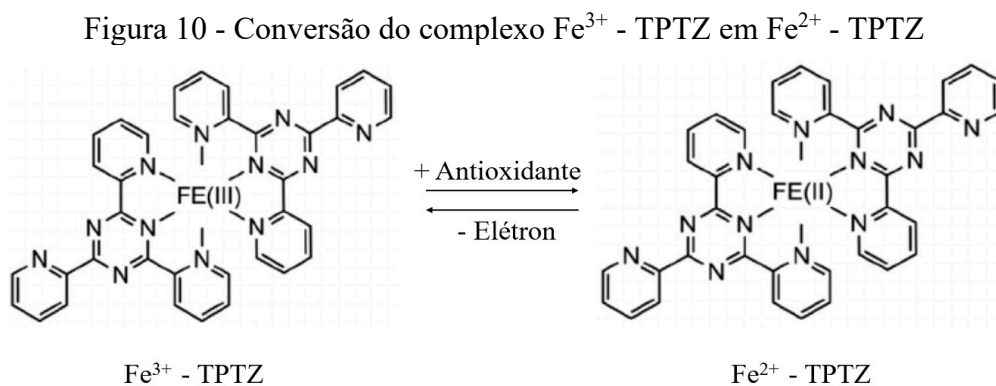
Os compostos antioxidantes podem ser divididos em duas classes de acordo com a sua aplicação, primários ou de quebra de cadeia, e secundários ou antioxidantes

preventivos. Os antioxidantes secundários possuem a capacidade de retardar a taxa de autoxidação lipídica (XIAO et al., 2020).

Dentre os mecanismos de ação de antioxidantes secundários destacam-se a complexação de metais, o sequestro de oxigênio, a decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não-radicalar, absorção de radiação UV ou desativação do oxigênio singlete. Existem várias metodologias para a determinação do poder de redução de antioxidantes, sendo que as mais empregadas se baseiam na redução do íon  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$  (LEWOYEHU et al., 2019; BENZIE e STRAIN, 1996; NILSSON et al., 2005).

O método FRAP (do inglês *Ferric Reducing Ability Power*) foi desenvolvido por Benzie e Strain (1996) com o objetivo de medir o poder redutor no plasma. O princípio desse método é baseado na redução de um complexo férrico 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina ( $\text{Fe}^{3+}$  - TPTZ) por ação de um antioxidante em meio acidificado, formando o radical  $\text{Fe}^{2+}$  - TPTZ, de coloração azul intenso, sendo essa reação monitorada em absorbância de 593 nm (LEWOYEHU et al., 2019), conforme ilustra a

Figura 10. Este é um método simples, barato e reprodutível. Além disso, é robusto, rápido e não requer equipamentos exclusivo (BENZIE e STRAIN, 1996).



Fonte: Autor

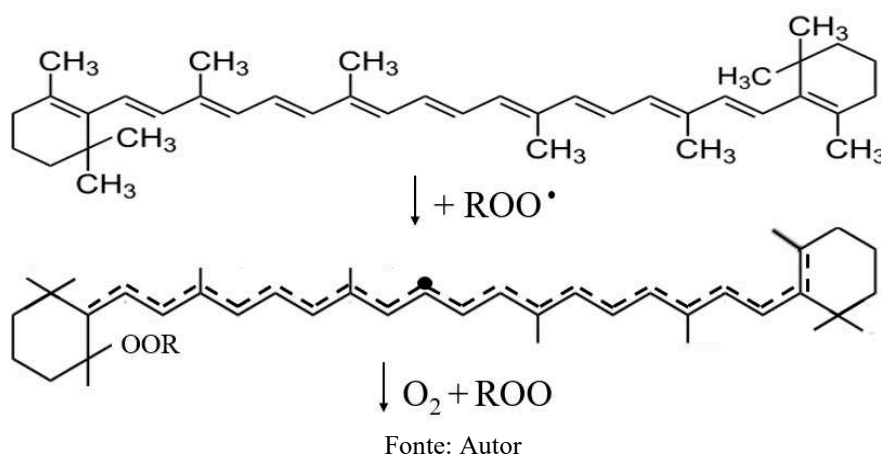
Alguns estudos têm avaliado a capacidade antioxidante pelo método FRAP em matrizes alimentares incorporadas com extratos ricos em polifenóis obtidos a partir de extrações da pele de amendoim, como hambúrgueres de ovelhas (MUNEKATA et al., 2016) e de frango (MUNEKATA et al., 2015). Os extratos proporcionaram reduções na oxidação lipídica, instigando uma delicada investigação (quanto aos compostos presentes nos extratos, estudos *in vivo*, toxicidade entre outros) desses compostos, possibilitando a sua utilização como antioxidantes naturais na indústria alimentícia.

#### 4.1.4 DESCOLORAÇÃO DO SISTEMA $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO

O método da descoloração (autooxidação) do sistema  $\beta$ -Caroteno/ácido linoleico utiliza o ácido linoleico, o monopalmitato de polioxietileno sorbitano (Tween 40). O ácido linoleico em presença do oxigênio forma o radical peroxil, esse radical reage com o  $\beta$ -caroteno, resultando na perda da coloração da solução passando da cor amarela intenso para amarelo claro. O Tween é utilizado como emulsificante e auxilia na dissolução completa da mistura  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico em clorofórmio que, após a sua total remoção (solvente) em rotaevaporador, é dissolvida em água previamente saturada em oxigênio atmosférico (MATTHÄUS, 2002).

Amostras de extratos vegetais, ricos em antioxidantes, podem reagir competitivamente com o radical peroxil (Figura 11), contribuindo para retardar a queda de absorbância do  $\beta$ -caroteno (SIDDEEG et al., 2020). Esse método é amplamente utilizado para avaliar a atividade antioxidante de matrizes alimentares e permite determinar o poder antioxidante de compostos antioxidantes resistentes a temperatura e a avaliação qualitativa da eficácia de extratos antioxidantes. Uma vez que o sistema utilizado na análise é constituído por uma emulsão (sistema aquoso-lipídico), a atividade antioxidante é medida pela capacidade do extrato em inibir o processo de oxidação do sistema, usualmente durante 120 minutos. A habilidade de inibir a oxidação de substratos lipídicos é resultado da combinação de vários fatores, como a temperatura, presença de oxigênio em condições que aceleram a reação de oxidação. A atividade antioxidante por este método é muito útil especialmente na investigação de antioxidantes lipofílicos. (BRAGA et al., 2016; MATTHÄUS, 2002).

Figura 11 - Reação de oxidação do  $\beta$ -Caroteno com radicais peróxil.



De acordo com Moyo et al. (2010), o potencial antioxidante determinado por este método pode ser útil especialmente na investigação de antioxidantes lipofílicos, como óleos essenciais. Por outro lado, se compostos polares forem testados pode-se subestimar a capacidade antioxidante desses compostos. Dessa forma, é necessário o uso de outros métodos (por exemplo o método de captura do radical DPPH, que independe da polaridade do substrato).

## 4.2 INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

### 4.2.1 $\alpha$ -AMILASE

O diabetes *Mellitus* é uma das doenças crônicas que mais afetam a população mundial, tendo acometido aproximadamente meio bilhão de pessoas (463 milhões) em todo mundo em 2019 (SAEEDI et al., 2019). Estimativas estipulam que até 2030 essa doença deve afetar 438 milhões de pessoas no mundo, sendo 70% dos casos em países pobres (VIEIRA et al., 2020). Esta doença metabólica crônica é causada por alterações ou deficiências na produção de insulina e é definida como uma síndrome heterogênea, pois pode existir em várias formas clínicas, das quais as mais importantes são a do tipo 1 ou também conhecida como insulino dependente, causada pela destruição de células do tipo  $\beta$  e a do tipo 2 ou independente de insulina, caracterizada por uma deficiência parcial de insulina (CARRIZZO et al., 2018).

Cerca de 90% dos pacientes diagnosticados apresentam diabetes do tipo 2, sendo esta ocasionada pela insuficiência ou deficiência na secreção da insulina pelas células  $\beta$ -pancreáticas ou, então, pela falta ou diminuição da sensibilidade dos receptores de insulina, gerando elevados níveis de glicose no sangue. A ingestão excessiva de



carboidratos, a obesidade e o estilo de vida tornam-se agravantes para o desenvolvimento desse tipo da doença. Apesar da disponibilidade de inúmeros fármacos para a regulação da hiperglicemia, cientistas estão buscando cada vez mais fármacos naturais para atuar no seu tratamento. Uma das possíveis maneiras de controlar esse estado patológico é inibir a atividade de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos e na regulação da liberação da insulina, por exemplo, aldoses, redutase, fosfatases,  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase (SZABÓ et al., 2020).

Uma das principais fontes de glicose presentes no sangue são os carboidratos da dieta, sendo amido a fonte de carboidrato mais consumida na dieta humana. Esse carboidrato é composto de amilose, um polímero predominantemente linear, onde suas unidades de glicose são unidas por meio de ligações  $\alpha$  (1,4) e pela amilopectina, que é altamente ramificada, devido à presença das ligações  $\alpha$  (1,6). O amido ingerido na dieta é hidrolisado por duas principais enzimas digestivas,  $\alpha$ -amilase (degradando o amido em maltose) e em seguida pela  $\alpha$ -glicosidase (formando em unidades de glicose). A  $\alpha$ -glicosidase situa-se na membrana ciliada do intestino delgado e promove a conversão do amido e da sacarose (clivagem das ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6) em moléculas de glicose. A  $\alpha$ -amilase está presente na saliva e no suco pancreático e é responsável por clivar as ligações  $\alpha$  (1,4) da amilose, liberando dextrina, maltose e maltotriose (JIANG et al., 2021).

De acordo com Dai et al. (2018) o controle dos níveis de glicose ainda continua sendo o principal mecanismo no tratamento de pacientes diagnosticados com diabetes tipo 2, que pode ser alcançado pela inibição das enzimas hidrolisantes. A inibição destas enzimas retarda o tempo de digestão dos carboidratos, reduzindo a proporção de glicose absorvida e, conseqüentemente, o aumento brusco de glicose pós-prandial no plasma.

Alguns medicamentos sintéticos são amplamente utilizados na inibição dessas enzimas, como acarbose, voglibose e miglitol, podendo ser utilizados de maneira isolada ou em combinação com secretagogos de insulina. Contudo, a ingestão desses compostos pode causar vários efeitos colaterais, como distúrbios hepáticos, flatulências e cólicas abdominais. Adicionalmente, alguns deles podem aumentar a incidência de tumores renais, lesão hepática e hepatite aguda (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ et al., 2016; SILVA et al., 2014).

Sendo assim, é de extrema importância a investigação de compostos naturais objetivando a substituição dos fármacos sintéticos já existentes. Na literatura, diversos

estudos têm investigado fontes alternativas para essas substâncias, sendo o principal foco, os compostos oriundos de subprodutos vegetais e agrícolas, como compostos fenólicos e glicoproteínas, sem os efeitos colaterais negativos associados aos inibidores sintéticos. Dentre as matérias primas encontradas na literatura com foco na inibição das enzimas hidrolisantes por compostos bioativos, pode-se citar, cacau, romã, *cranberry* e uvas (BARRETT et al., 2013), araçá (PEREIRA et al., 2020), cevada (RAMAKRISHNA et al., 2017), sementes de myrica (WANG et al., 2020), camomila, jambolão, melão de são caetano (FRANCO et al., 2018), orégano, sálvia, tomilho, alecrim, manjeriço (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2020), soja (ADEMILUYI e OBOH, 2013) e folha de graviola (JUSTINO et al., 2018). Além disso, esses compostos bioativos também possuem forte potencial antioxidante, atuando na eliminação de radicais livres, consequência de sua alta capacidade antioxidante e potencialmente podem ajudar a mitigar os efeitos do estresse oxidativo crônico induzido pela hiperglicemia (WICKRAMARATNE et al., 2016).

Estudos desenvolvidos por Fu et al. (2015) comprovaram a eficácia da extratos do pericarpo oriundos do Logan, uma fruta cultivada em países tropicais e subtropicais, também conhecido como “olho de dragão” ou “lichia branca” ricos em proantocianidinas na inibição de  $\alpha$ -amilase (IC<sub>50</sub> de 0,075 mg mL<sup>-1</sup>). Adicionalmente, alguns estudos evidenciaram a presença desses flavonoides em extratos oriundos da pele de amendoim, o que possibilita a investigação desses extratos frente a inibição dessas enzimas (DONG et al., 2013; HO et al., 2019; OLDONI et al., 2016). Até o momento, poucos estudos foram encontrados na literatura referente à avaliação de extratos do subproduto do processamento do amendoim frente à inibição dessas enzimas.

#### 4.2.2 ACETILCOLINESTERASE (AChE)

Caracterizada como uma doença neurodegenerativa grave, crônica e progressiva, a doença de Alzheimer está associada ao comprometimento da memória e da cognição, podendo levar o indivíduo à morte, sendo o motivo mais comum de demência em populações idosas (afetando principalmente após os 65 anos de idade) (DEY et al., 2017).

A patogenicidade da doença de Alzheimer ainda não foi completamente elucidada, entretanto a hipótese colinérgica é a teoria mais antiga e bem aceita entre os pesquisadores. A hipótese colinérgica é baseada no déficit do neurotransmissor, chamado acetilcolina, o qual representa o substrato para a enzima acetilcolinesterase. Essa enzima

é encontrada nas áreas sinápticas do sistema nervoso central e periférico e nas membranas dos glóbulos vermelhos e catalisam a hidrólise da acetilcolina em acetato e colina. A abordagem terapêutica para a interrupção da hidrólise da acetilcolina pelas enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase se dá pelo impedimento do ligamento do substrato (acetilcolina) com as enzimas. A enzima acetilcolina é responsável por 80% da hidrólise da acetilcolina em segundos ou milésimos de segundos, após a sua liberação de um neurônio colinérgico pré-sináptico, enquanto a enzima butirilcolinesterase é responsável por 20%, geralmente atuando como co-reguladora da hidrólise da acetilcolina (JING et al. 2019; KHAN et al. 2018). Ambas enzimas se diferem pela sua estrutura, função e localização nos tecidos, atividade e sensibilidade à substâncias químicas, sendo altamente evolutivas (PEREIRA et al., 2019). Segundo Belyaev et al. (2010) a falta de acetilcolina no cérebro causa deposição de placas amiloides, levando à perda das funções intelectuais, como problemas de comunicação e desorientação de tempo e espaço, como demência (geralmente em pessoas com idades mais avançadas).

Atualmente, o uso de fármacos, como fisostigmina, tacrina e donepezil (inibidores sintéticos) são altamente utilizados para a inibição das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase. Todavia, a ingestão desses medicamentos estão diretamente associados com diversos efeitos adversos, como toxicidade hepática e complicações gastrointestinais (KHAN et al., 2018). Com o propósito de eliminar os efeitos colaterais causados por inibidores sintéticos, diversos extratos oriundos de fontes naturais estão sendo testados para avaliar seu potencial quanto a inibição das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase. Alguns estudos estão sintetizados na Tabela 3, os quais identificaram a presença de compostos com atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase. Esses compostos também foram identificados em extratos oriundos da pele de amendoim, como visto anteriormente, indicando uma possível atividade de inativação dessa enzima (acetilcolinesterase).

Na Tabela 3 é possível observar a matéria prima utilizada para a extração, a identificação dos compostos avaliados frente as atividades inibitórias de acetilcolina. Nenhum estudo relacionado à avaliação da atividade inibitória das enzimas acetilcolina frente a extratos da pele de amendoim foi encontrado na literatura. É de extrema importância avaliar o potencial (*in vitro* e posteriormente *in vivo*) desses compostos, em vista da diversa gama de compostos encontrados em diferentes extrações dessa matéria prima, disponibilizando novas fontes de extração desses compostos inibitório e

consequentemente levando a uma reutilização de resíduos e o contexto de uma economia circular.

Tabela 3 - Matérias primas avaliadas frente a inibição da enzima acetilcolinesterase.

Matéria Prima	Composto	Concentração do extrato avaliado	Resultados	Referencia
<i>Alchemilla vulgaris</i> (manto de senhora)	Proantocianidina <sup>1</sup>	3 mg mL <sup>-1</sup>	96,50%	Neagu et al. (2015)
<i>Filipendula ulmaria</i> (verme doce)			98,30%	
<i>Harpephyllum caffrum</i> (ameixa sul-africana)	Proantocianidina <sup>3</sup>	0,5 mg mL <sup>-1</sup>	<sup>7</sup> Folha: 0,12 mg mL <sup>-1</sup> <sup>7</sup> Caule: 0,02 mg mL <sup>-1</sup>	Moyo et al. (2010)
<i>Sclerocarya birrea</i> (marula)			<sup>7</sup> Folha: 4,14 mg mL <sup>-1</sup> <sup>7</sup> Caule: 0,47 mg mL <sup>-1</sup> <sup>7</sup> Opérculo: 2,38 mg mL <sup>-1</sup>	
<i>Buddleja salviifolia</i> (artemísia)	Quercetina <sup>4</sup>	-	<sup>7</sup> Folha: 66,80 µg mL <sup>-1</sup>	Pendota et al. (2013)
<i>Salvia leiifolia</i> (sálvia)	Terpeno <sup>5</sup>	1-0,25 mg mL <sup>-1</sup>	<sup>7</sup> 0,59 mg mL <sup>-1</sup>	Loizzo et al. (2010)
<i>Allium cepa</i> (casca de cebola)	Quercetina <sup>6</sup>	5 mg mL <sup>-1</sup>	<sup>7</sup> 70,5 - 82,3 µg mL <sup>-1</sup>	Nile et al. (2018)

<sup>1</sup>70% Etanol; <sup>2</sup>100% Acetato de etila; <sup>3</sup>50% Metanol; <sup>4</sup> 20% Metanol; <sup>5</sup>100% n-hexano; <sup>6</sup>80% metanol; <sup>7</sup>Valores expressos em IC<sub>50</sub>.

Fonte: Adaptado de Loizzo et al. (2010); Moyo et al. (2010); Neagu et al. (2015); Nile et al. (2018) e Pendota et al. (2013)

Um crescente número de estudos mostraram que proantocianinas (extraídas de semente de uvas) podem agir com um grande potencial terapêutico em doenças neuro inflamatórias (doença de Alzheimer) (UNUSAN, 2020). Esses compostos são comumente encontrados em extratos oriundos da pele de amendoim (APPELDOORN et al., 2009; CAMARGO et al., 2017; OLDONI et al., 2016; SARNOSKI et al., 2012), tornando os extratos dessa matéria prima promissores para a inativação dessas enzimas.

Atualmente, alguns estudos de *docking* molecular estão sendo utilizados para avaliar, justificar e visualizar as possíveis ligações e interações de compostos com essa e outras enzimas (por exemplo, α-amilase). Um estudo conduzido por Katalinić et al. (2010) avaliaram a inibição das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase frente a alguns flavonoides (galangina, kaempferol, quercetina, miricetina, fisetina, apigenina,

luteolina e rutina). Todos os flavonoides avaliados apresentaram atividade *in vitro* de inibição de ambas enzimas. Adicionalmente, estudos de *docking* foram realizados para determinar e avaliar as interações entre os flavonoides selecionados e a enzima butirilcolinesterase. Como resultado desse estudo, dez possíveis complexos butirilcolinesterase-flavonoides com diferentes ligações entre o sítio ativo da enzima e o composto foram apresentados. Esses estudos auxiliam a observação da ligação enzima-substrato e facilitam a compreensão dos seus mecanismos. Bodoira et al. (2017) identificou por UHPLC-MS a presença de flavonoides, como quercetina e proantocianidinas, compostos também com atividade enzimática inibitória, (Tabela 3) em extratos obtidos da pele de amendoim, evidenciando a possibilidade desses extratos atuarem na inibição da enzima acetilcolina.

## 5 ESTADO DA ARTE

Como visto anteriormente, até o presente momento poucos há estudos relacionados com a extração de compostos de alto valor agregado do subproduto do processamento do amendoim por meio de técnicas verdes de extração, sendo elas isoladas ou integradas. Geralmente, esse subproduto é descartado em aterros sanitários ou destinados para a alimentação animal. Entretanto, essa matéria prima é rica em compostos que apresentam inúmeros benefícios, com uma vasta aplicabilidade nas indústrias farmacêuticas e alimentícias.

Com relação a extração de compostos de alto valor agregado da pele de amendoim por extração supercrítica (SFE) foram encontrados na literatura apenas três trabalhos, com os seguintes temas: (1) otimizar os efeitos dos parâmetros de extração (pressão, temperatura e vazão de etanol com cossolvente) visando a obtenção de extratos com altas capacidades antioxidantes (PUTRA et al., 2018); (2) estudar e comparar o efeito do tamanho de partícula em extrações com dióxido de carbono (com etanol como cossolvente) e extração Soxhlet em termos de rendimento e atividade antioxidante (PUTRA et al., 2018) e (3) comparar extrações realizadas com dióxido de carbono (0 e 5% de etanol) supercrítico e Soxhlet em termos de rendimento de frações lipídicas e catequina (PUTRA et al., 2018).

Adicionalmente, Bodoira et al. (2017) avaliaram a viabilidade de processos a altas pressões, utilizando etanol e água e suas misturas, para a obtenção de extratos ricos em compostos fenólicos com capacidade antioxidante.

Entretanto, os autores citados anteriormente não avaliaram a composição de ácidos graxos (dos extratos apolares) e o potencial de inibição enzimática frente a enzimas relacionadas a obesidade e Alzheimer. Além disso, nenhum trabalho foi encontrado no levantamento realizado na literatura frente a um processo de biorrefino da matéria-prima. Objeto de estudo muito selecionado atualmente, uma vez que com a aplicação desses processos possibilita a obtenção de diferentes produtos com alto valor agregado e consequentemente, um esgotamento parcial/total da matéria prima.

Desta maneira, o presente trabalho utilizou diferentes técnicas de extração (convencionais, não convencionais e com aplicações integradas), com diferentes solventes e temperaturas para a obtenção de extratos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.). Adicionalmente, o presente trabalho visou desenvolver um processo de biorrefino da matéria prima (com o objetivo do esgotamento parcial/total) e também verificar suas atividades antioxidantes e de inibição enzimática para possíveis aplicações nas indústrias farmacêutica e alimentar.

## **CAPÍTULO III**

### **AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO NA QUALIDADE DOS EXTRATOS DO SUBPRODUTO DO PROCESSAMENTO AMENDOIM**

## 1 INTRODUÇÃO

As indústrias de processamento de alimentos geram uma vasta quantidade de resíduos e subprodutos, os quais provocam impactos ambientais, muitas vezes irreversíveis. Entretanto, esses resíduos ou subprodutos podem se apresentar como uma excelente fonte de compostos bioativos com relevantes potenciais de aplicação como para a conservação de alimentos, como corantes, enriquecimento alimentar, além de potencial para emprego em medicamentos e cosméticos, entre outros. Aliado com a crescente demanda do consumidor por produtos naturais, indústrias alimentícias e farmacêuticas estão cada vez estimulando a investigando de novas tecnologias para a recuperação e aplicação desses compostos ativos oriundos das mais diversas fontes de produtos naturais.

Dentre os métodos de extração alternativos destacam-se as “extrações verdes”, dentre elas, extração supercrítica (SFE), extração com líquidos pressurizados (PLE) e com água subcrítica (SWE). Essas tecnologias são atraentes para a recuperação de compostos bioativos por apresentarem um apelo favorável ao meio ambiente. Usualmente, essas tecnologias utilizam CO<sub>2</sub>, etanol, água ou a misturas destes para a recuperação de compostos bioativos oriundos de matérias primas vegetais com alto valor agregado, sendo considerados uma boa alternativa para assegurar a obtenção de extratos de alta qualidade.

Quando se trata de extração é importante levar em conta os compostos de interesse a serem extraídos, assim como a matéria-prima a ser tratada, para melhor explorar as características, as vantagens e as limitações de cada método. Fatores como, custos envolvidos no processo de extração, tipo de aplicação do extrato, substância alvo, conteúdo residual do solvente empregado, entre outros, podem ser levados em consideração para a escolha de um método mais adequado. Desta forma, é extremamente importante ressaltar que a técnica empregada na extração de compostos de alto valor agregado a partir de diferentes produtos naturais é fundamental para definição da qualidade do produto. A extração de bioativos por métodos convencionais como extração com solvente orgânico pode normalmente ser responsável por degradação térmica, pela contaminação com resíduos de solvente do extrato final recuperado, ou ambos (WIANOWSKA e GIL, 2019). Ainda, a grande competitividade na área de fitoterápicos destaca a importância do emprego de técnicas modernas de extração.



Tendo em vista o exposto, no presente capítulo objetivou-se avaliar a influência de diferentes técnicas de extração, convencionais e não-convencionais, e de seus parâmetros de processo (polaridade do solvente e temperatura de extração) com relação ao rendimento de extração e à qualidade dos extratos, particularmente com relação ao teor de compostos fenólicos, potencial antioxidante e de inibição enzimática, além da composição química de extratos oriundos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Nesta seção serão relatados os materiais e métodos utilizados para a extração de compostos do subproduto do processamento do amendoim, sendo empregadas técnicas em baixa e altas pressões. Além disso, os métodos aplicados para a avaliação da capacidade antioxidante e de inibição enzimática dos extratos. Os ensaios de extração e de avaliação da capacidade antioxidante foram realizados no Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC). As leituras de absorvância dos ensaios de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram realizados no Laboratório Multiusuário em Ensino de Biologia (LAMEB) do Departamento de Biologia. Ambos da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os ensaios de avaliação do potencial de inibição enzimática dos extratos foram realizados no Laboratório de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

### 2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

O resíduo oriundo do processamento do amendoim, composto majoritariamente pela pele do amendoim, foi gentilmente cedido pela empresa *Many – Indústria e Comercio de Doces Ltda – EPP* localizada na cidade de Itajaí – Santa Catarina. O resíduo cedido é proveniente de amendoins do cultivar *Runner*, produzido no estado de São Paulo. A matéria prima foi separada em pequenas porções (2 kg) e acondicionada em sacos de polietileno e armazenada em congelador doméstico a -18 °C no LATESC/UFSC. A Figura 12 ilustra a matéria prima utilizada no presente estudo.

Figura 12 - Resíduos do processamento do amendoim tipo *Runner*.



Fonte: Autor

## 2.2 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

### 2.2.1 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO MÉDIO DE PARTÍCULA

O diâmetro médio de partícula foi determinado mediante a separação com agitação mecânica de 50 g de amostra da matéria prima, devidamente pesada em balança de 0,0001 g de precisão (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brasil) em peneiras padronizadas da série *Tyler* de 16, 20, 25, 32 48 *mesh* (0,85; 0,71; 0,5; 0,3 e 0,001 mm, respectivamente) por 30 minutos. Com as frações retidas em cada peneira, calculou-se o diâmetro médio das partículas, conforme as Equações 1 e 2, propostas por Pessoa et al. (2015).

$$\bar{d}_s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta l_i}{d_t}}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta l_i}{d_t^3}}} \quad \text{Equação 1}$$

$$\Delta l_i = \frac{m_i}{m_t} \quad \text{Equação 2}$$

Sendo  $\bar{d}_s$  o diâmetro médio das partículas (mm),  $m_i$  a massa de amostra retida na peneira  $i$  (g),  $m_t$  a massa total de amostra (g),  $d_i$  o diâmetro da peneira  $i$  (mm) e  $n$ , o número de frações. As frações da matéria prima retidas em cada peneira são ilustradas no Anexo II.

### 2.2.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade do resíduo oriundo do processamento do amendoim foi determinado conforme o método descrito pela AOAC (2012). Em uma balança analítica com 0,0001 g de precisão (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brasil) pesou-se cerca de 3 g de amostra em cadinho previamente tarado, seguido de aquecimento em estufa (E.L. 003, Odontobrás, Ribeirão Preto, Brasil) a 105 °C por 6 horas. Após esse período, os cadinhos foram alocados em dessecador para o resfriamento e por fim, pesados. O percentual de umidade foi determinado conforme a Equação 3. Repetiu-se as etapas descritas anteriormente até a observação do peso constante. O procedimento descrito anteriormente foi realizado em triplicata e os resultados foram expressos como média ± desvio padrão.

$$\% \text{ Umidade} = \frac{m_{\text{final}}}{m_{\text{inicial}}} \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

Sendo,  $m_{\text{final}}$  representa a massa final da amostra (g) e  $m_{\text{inicial}}$  a massa inicial da amostra.

### 2.2.3 DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE ESPECÍFICA REAL

A densidade específica real ( $\rho_r$ ) foi determinada no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) utilizando um picnômetro a gás hélio (Micrometrics, AccuPyc II 1340, São Paulo/SP – Brasil), o qual segue o princípio de Arquimedes de deslocamento de fluidos. Essa técnica é muito útil, juntamente com a densidade aparente para o cálculo do volume total dos poros e a porosidade de amostras utilizadas em técnicas de extrações. O picnômetro é composto por duas câmaras. Uma é utilizada para a inserção da amostra (de volume  $V_c$ ) e uma câmara de referência (de volume  $V_r$ ) conectada a um transdutor de pressão. O uso do gás hélio é preferível pelo fato do seu comportamento ideal. Devido à estrutura da sua molécula, os átomos de hélio são capazes de penetrar nos pequenos poros do analito. Outro fato a ser considerado é o seu comportamento inerte, supondo-se que o gás não reaja com o analito, evitando assim reações indesejáveis no decorrer da análise. Inicialmente, a amostra colocada na respectiva câmara é sujeita a um processo de limpeza que consiste em repetidas purgas com hélio, para remoção de impurezas e umidade que eventualmente possa conter. Depois que todo o sistema é levado à pressão atmosférica, a câmara de expansão é isolada pelo fechamento da válvula de expansão (operação realizada automaticamente pelo equipamento). A câmara da amostra é preenchida com gás hélio até uma dada pressão ( $P_c$ ), essa pressão é salva e a válvula que conecta as duas câmaras é aberta, permitindo

obter uma pressão de equilíbrio entre as duas câmaras ( $P_r$ ), essa pressão também é registrada. A densidade aparente real da amostra e eventualmente a sua porosidade é então determinada aplicando-se a lei dos gases ideais e aplicando a diferença de volumes. A relação entre o volume da amostra e o volume de referência é dado pela Equação 4. É valido ressaltar que a análise deve ser realizada a uma temperatura constante.

$$V_{\text{amostra}} = V_c + \frac{V_r}{1 - \frac{P_c}{P_r}} \quad \text{Equação 4}$$

Uma vez determinado o volume da amostra ( $V_{\text{amostra}}$ ), o *software* calcula a densidade aparente real ( $\rho_r$ ) por meio da Equação 5, a qual relaciona a massa da amostra com seu volume médio ( $V_M$ ). Para uma melhor precisão do resultado, o volume é determinado 10 vezes, sendo o volume médio ( $V_M$ ) a média das 10 repetições (MARKL et al., 2018).

$$\rho_r = \frac{m}{V_M} \quad \text{Equação 5}$$

A principal vantagem deste método está na sua capacidade para medir apenas o volume da amostra descontando o volume de todos os poros.

### 2.3 EXTRAÇÃO SOXHLET

A extração Soxhlet (SOX) do resíduo do processamento de amendoim foi utilizada como representante dos métodos convencionais a baixa pressão. Foi utilizado o procedimento de acordo com o método 920.39 da AOAC (2005), utilizando hexano (Neon, Brasil, 99% pureza), etanol (Dinâmica, Brasil, 99,5% pureza), etanol/água (70:30 v/v) e água como solventes. A Tabela 4 lista os valores de polaridade dos solventes empregados.

Tabela 4 – Índice de polaridade dos solventes utilizados na extração Soxhlet.

Solvente	Índice de polaridade
Água	9
Etanol	5,2
Hexano	0,0

<sup>1</sup>Medida da capacidade de um determinado solvente interagir com solutos padrões (solutos teste) de características polares, definido por Snyder (1974)

Fonte: Autor

Para cada extração foram utilizados 5 g de amostra, a qual foi acondicionada em um cartucho de papel filtro. Na sequência adicionou-se 150 mL de solvente ao balão e

aqueceu-se até a temperatura de ebulição, por meio de uma manta de aquecimento. Em todas as extrações manteve-se a razão de amostra e solvente 1:30 (m/v). O processo de extração ocorreu de forma contínua com velocidade de gotejamento de aproximadamente 4 a 5 gotas de solvente por segundo, durante 6 horas. Os extratos obtidos após a extração Soxhlet passaram por um processo de eliminação de solvente, em um rotaevaporador (Fisatom, Mod. 801 e 802, São Paulo/SP, Brasil) com aquecimento por banho termostático na temperatura de 45 °C (Mod. MQBTZ99-20, Microquímica Ind. Com. e Repr. Ltda., Palhoça/SC, Brasil) e controle de vácuo (NT 613, Nova Técnica, Piracicaba/SP, Brasil). As temperaturas de evaporação foram ajustadas para valores inferiores aos pontos de ebulição dos solventes utilizados, a fim de evitar alterações do extrato devido à aplicação de calor, e o vácuo ajustado em 650 mmHg. Após a eliminação do solvente, as amostras foram acondicionadas em frascos âmbar e armazenadas em freezer (Brastemp, Freezer 250, Modelo BVS25ABBNA) a -18 °C. As extrações foram conduzidas em triplicata e os resultados dos rendimentos foram expressos como média ± desvio padrão, conforme a Equação 6.

$$X_0(\%) = \frac{m_e}{m_a} \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

Sendo,  $m_e$  a massa de extrato (g) e  $m_a$  a massa da amostra (base úmida).

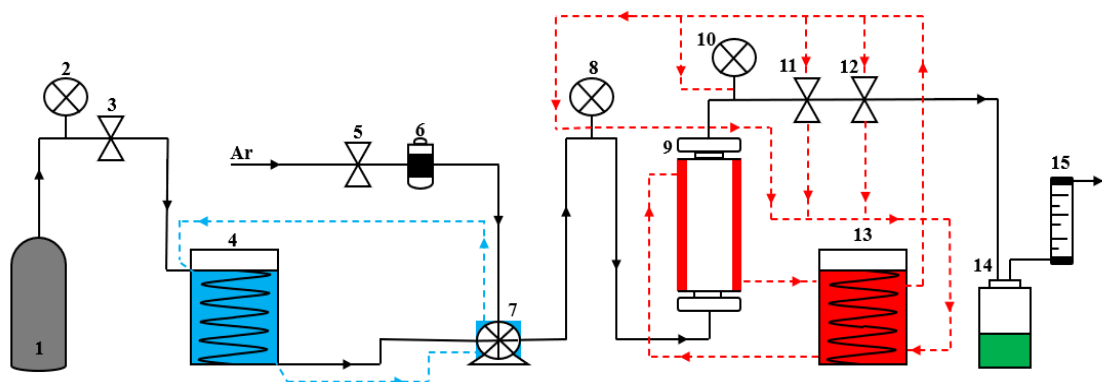
## 2.4 EXTRAÇÕES NÃO CONVENCIONAIS

### 2.4.1 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA (SFE)

No presente trabalho os ensaios foram conduzidos com CO<sub>2</sub> supercrítico em regime dinâmico de extração supercrítica, o qual caracteriza-se pela passagem contínua do CO<sub>2</sub> supercrítico através da matriz sólida. Esse regime foi empregado nos ensaios cinéticos e na determinação do rendimento global de extração. Os ensaios foram conduzidos em uma unidade de extração, disponível no LATESC/UFSC, que opera em pressões de até 30 MPa e vazão de solvente de até 2,2 kg h<sup>-1</sup>. Mazzutti et al. (2012) detalham os princípios de elaboração e da construção do equipamento utilizado. A estrutura da unidade de extração é formada por um cilindro de CO<sub>2</sub> (White Martins, Brasil, 99,9% de pureza), um banho termostático de resfriamento (Microquímica, MQBTZ99-20, SC, Brasil), programado para manter a temperatura inferior a 0°C, garantindo que o CO<sub>2</sub> siga no estado líquido para a bomba de compressão (Maximator M0111, Nordhausen, Alemanha) impedindo o efeito de cavitação. Além disso, possui

também uma coluna de extração de 138,2 mL (20 mm de diâmetro interno e 440 mm de altura) de aço inoxidável AISI 316, e encamisada para controle de temperatura pela circulação de água proveniente de um banho de aquecimento (Microquímica, MQBMP01, Palhoça – Brasil ou Microquímica, MQBTC99-20, SC, Brasil). A vazão de CO<sub>2</sub> é controlada por válvulas do tipo agulha (HIP, modelo 10-11 NFA e modelo 10-11 NFA-REG, EUA). As válvulas são mantidas a uma temperatura superior a 60°C por um banho termostático (Fisatom, modelo 572, São Paulo/SP – Brasil). Por fim, a vazão de CO<sub>2</sub> é monitorada por um rotômetro (Swagelok, modelo VAF-G4-1933-1-0, EUA). A Figura 13 ilustra o diagrama da unidade, contemplando os equipamentos que a compõem, bem como o fluxo de extração.

Figura 13 - Diagrama ilustrativo da unidade de extração supercrítica



1 – Reservatório de CO<sub>2</sub>; 2 – Manômetro de entrada do CO<sub>2</sub>; 3 – Válvula de entrada do CO<sub>2</sub>; 4 – Banho de resfriamento do CO<sub>2</sub>; 5 – Válvula reguladora de ar comprimido; 6 – Filtro; 7 – Bomba de CO<sub>2</sub>; 8 – Manômetro de entrada da coluna; 9 – Coluna de extração; 10 – Manômetro de saída da coluna; 11 – Válvula macrométrica de saída de CO<sub>2</sub> da coluna de extração; 12 – Válvula micrométrica de saída de CO<sub>2</sub> da coluna de extração; 13 – Banho de aquecimento; 14 – Reservatório coletor de extrato; 15 – Rotômetro.

Fonte: Autor

O processo de extração se inicia com o fechamento das válvulas 11 e 12, na sequência o cilindro de CO<sub>2</sub> (Figura 13, 1) é aberto e aguarda-se a equalização dos manômetros. A bomba (Figura 13, 7) então é acionada e estabelece-se a pressão de operação desejada pela regulagem do ar comprimido que entra na bomba. Após estabelecida a pressão desejada, as válvulas 11 e 12 (Figura 13) são abertas para depressurização do solvente e controle da vazão de solvente, sendo essas condições mantidas até o final do experimento. O fluido supercrítico passa pela coluna de extração (Figura 13, 9) sendo coletado em frasco âmbar (Figura 13, 14). Os frascos foram armazenados em freezer (Brastemp, Freezer 250, Modelo BVS25ABBNA) à -18°C.

#### 2.4.1.1 EXPERIMENTOS CINÉTICOS DE SFE

Estudos cinéticos da SFE foram desenvolvidos com o intuito de determinar o tempo total de extração, necessário para estabelecer as condições de processo para os ensaios de determinação de rendimento da SFE. No presente estudo, aproximadamente 15 g de amostra, determinados em balança analítica (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brasil) foram inseridos na coluna de extração (Figura 13, 9), o que permitiu a formação de um leito de partículas com altura de pelo menos o dobro do diâmetro do extrator, essa relação (altura/diâmetro) permite que a dispersão axial seja desprezada. Os extratos foram coletados em frascos âmbar, os quais foram pesados em balança analítica (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brasil). Inicialmente os extratos foram coletados em um intervalo de 5 minutos. Após atingir 30 minutos, as coletas foram realizadas em intervalos de 10 minutos, até atingir 100 minutos. Na sequência, as amostras passaram a ser coletadas em intervalos de 20 minutos, decorridos 210 minutos, quando o intervalo passou para 30 minutos, finalizado a extração em 360 minutos. A condição de operação utilizada para a realização dos ensaios cinéticos, 20 MPa, 40 °C e vazão de 1 kg de CO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> foi selecionada de acordo com Ferro et al. (2019), considerando as limitações do equipamento e as condições de temperatura e pressão empregadas nos ensaios de rendimento (item 2.4.1.2).

O tempo de extração foi determinado a partir da curva global de extração, mediante a aplicação de regressão linear em três etapas (*software* Origin Pro 2019). Os dados experimentais foram ajustados a três retas, a partir de dois pontos de quebra, propostos pelo modelo. As três retas ajustadas representam as três etapas da curva global de extração, seus ajustes estão representados nas Equações 7, 8 e 9.

Etapa constante de extração (CER), sendo  $t < t_{CER}$ , representada pela primeira linha:

$$y = a_1 + k_1 t \quad \text{Equação 7}$$

Etapa decrescente de extração (FER), sendo  $t_{CER} \leq t \leq t_{FER}$ , representada pelo segundo segmento de reta:

$$y = a_1 + k_1 t_{CER} + k_2 (t - t_{FER}) \quad \text{Equação 8}$$

Etapa difusional (DC), sendo  $t > t_{FER}$ , representada pelo terceiro e último segmento de reta:

$$y = a_1 + k_1 t_{\text{CER}} + k_2 (t_{\text{FER}} - t_{\text{CER}}) + k_3 (t - t_{\text{FER}}) \quad \text{Equação 9}$$

sendo  $y$  (g) a massa acumulada em gramas;  $t$  (min) o tempo;  $a_1$  (g) o coeficiente linear da reta na etapa CER;  $k_1$ ,  $k_2$  and  $k_3$  ( $\text{g min}^{-1}$ ), são os coeficientes angulares das retas das etapas CER, FER e DC, respectivamente;  $t_{\text{CER}}$  (min) é o ponto relativo à primeira quebra do modelo, em outras palavras, o tempo em que se encerra a etapa CER e se inicia a etapa FER e  $t_{\text{FER}}$  (min) o ponto relativo à segunda quebra, ou seja, o tempo em que se encerra a etapa FER e se inicia a etapa DC.

Com o modelo também foi possível determinar a velocidade de transferência de massa na etapa CER ( $M_{\text{CER}}$ ) e a concentração de soluto na fase solvente na etapa CER ( $Y_{\text{CER}}$ ), determinada pela razão entre  $M_{\text{CER}}$  e  $Q_{\text{CO}_2}$ . Os valores experimentais de massa de extrato recolhidas em cada ponto do experimento estão apresentados no Anexo III.

#### 2.4.1.2 RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO ( $X_0$ )

O rendimento global de extração ( $X_0$ ) é definido como a quantidade de óleo extraível presente em uma matriz sólida, referente a uma dada condição de extração. Nos experimentos foram utilizados a mesma massa de matéria prima empregadas nos ensaios de cinética de extração. A coluna de extração foi empacotada com 15 g de amostra (matéria-prima), sendo que nas extremidades foram incluídas uma camada de 30 mL de esferas de vidro e outra de algodão.

As extrações foram realizadas em duplicata e o rendimento global ( $X_0$ ) foi calculado pela razão da massa de extrato ( $m_e$ ) e a massa de amostra (base úmida) ( $m_a$ ) utilizada para a formação do leite, conforme e Equação 10.

$$X_0(\%) = \frac{m_e}{m_a} \times 100 \quad \text{Equação 10}$$

A massa de extrato obtida nos frascos foi medida em balança analítica (AY220, Shimadzu, São Paulo, Brasil) e armazenada a  $-18$  °C (Brastemp, Freezer 250, Modelo BVS25ABBNA) até a realização dos ensaios posteriores.

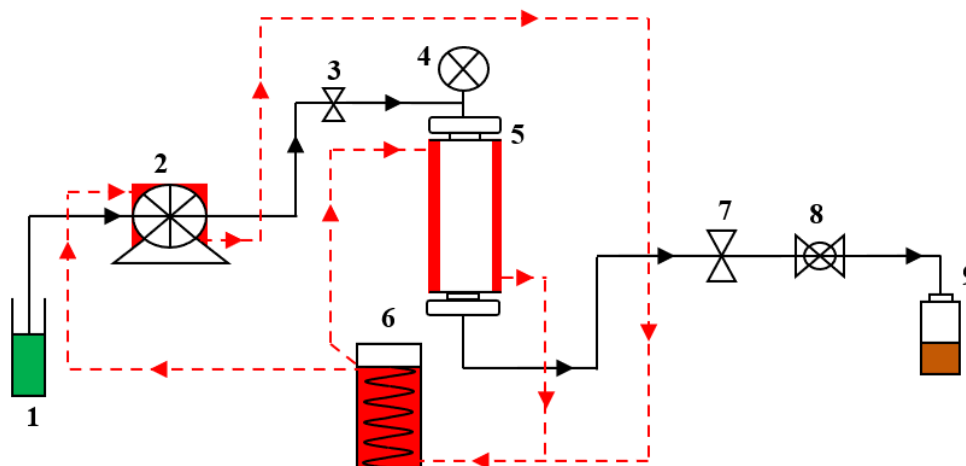


## 2.4.2 EXTRAÇÃO COM FLUIDOS PRESSURIZADOS (PLE E SWE)

Os ensaios de extração com líquido pressurizado (PLE) e com água subcrítica (SWE) foram realizados no método dinâmico e tiveram por objetivo avaliar a qualidade dos extratos obtidos em diferentes temperaturas e concentrações de solventes, etanol (Dinâmica, Brasil, 99,5% pureza), água e sua mistura na proporção de 70:30 v/v. Também foram realizados estudos cinéticos objetivando a determinação do tempo de extração.

Os ensaios de PLE e de SWE foram realizados em uma unidade de estação *homemade* (LATESC/UFSC), conforme ilustrado na Figura 14.

Figura 14 - Diagrama ilustrativo da unidade de extração com líquido pressurizado e água subcrítica.



1 – Reservatório de solvente; 2 – Bomba HPLC para solvente; 3 – Válvula de bloqueio; 4 – Manômetro; 5 – Coluna de extração; 6 – Banho de aquecimento; 7 – Válvula de bloqueio; 8 – Válvula *back pressure*; 9 – Recipiente de coleta do extrato

Fonte: o Autor

### 2.4.2.1 PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO:

As extrações foram realizadas de acordo com Lasta et al. (2019) e Rodrigues et al. (2019) com algumas modificações. Inicialmente a amostra foi empacotada no interior da célula de extração (aço inoxidável AISI 316), na seguinte ordem de camadas: algodão, esferas de vidro (~30 mL), algodão, amostra (5 g) e por fim algodão. As esferas de vidro foram utilizadas a fim de evitar a formação de caminhos preferenciais. Em seguida, as válvulas de bloqueio, Figura 14 (7 e 8), foram mantidas fechadas e o solvente bombeado para a célula de extração encamisada, Figura 14 (5), a qual foi mantida na temperatura de extração por um banho termostático, Figura 14 (6) (Microquímica, modelo MQBTZ 99-20, Palhoça/SC - Brasil), operando com água. O solvente então foi bombeado através de uma bomba de alta eficiência, Figura 14 (2) (Waters 515 HPLC, UK), até a pressão

almejada. Ao atingir a pressão de operação, procedeu-se a abertura das válvulas, Figura 14 (7 e 8), iniciando assim a contagem do tempo de extração, caracterizando-se o modo dinâmico, pela passagem contínua do solvente pela célula de extração, solubilizando os compostos e os carregando através do sistema e coletados em frascos âmbar. Por fim, os extratos recolhidos passaram por etapas de separação do solvente.

#### 2.4.2.2 EXPERIMENTOS CINÉTICOS

Previamente, um estudo cinético foi realizado com subproduto do processamento do amendoim para determinar o tempo de extração. Análogo à cinética da SFE, foram empregadas 5 g de amostra para empacotar a coluna de extração, conforme descrito na seção 2.4.2. Para PLE, a cinética foi determinada em 10 MPa, 80 °C e vazão de 3 mL de etanol por minuto. Para SWE, a cinética de extração foi realizada em 10 MPa, 160 °C e vazão de 3 mL de água por minuto. Para PLE a coleta do soluto extraído foi realizada em tempos pré-determinados, sendo, os 10 primeiros minutos, coletados em intervalos de 2 minutos, após esse período, os frascos foram coletados de 3 em 3 minutos até 61 minutos. No caso da SWE os intervalos de coleta foram de 2 minutos, para os primeiros 10 minutos, depois de 3 minutos até 31 minutos, e 5 minutos até 96 minutos de extração.

Então, as amostras coletadas foram submetidas à remoção do solvente: para PLE, por rotaevaporação (Fisaton Modelo 802, São Paulo/SP - Brasil) para a remoção do etanol, enquanto para SWE os extratos foram submetidos à liofilização (L101, Liotop, São Carlos, Brasil). Os extratos foram então pesados e os valores foram utilizados posteriormente para o cálculo do rendimento.

O tempo de extração, para PLE e SWE foram determinados a partir das curvas globais de extração, os resultados também foram submetidos a uma regressão linear por partes, conforme descrito na seção 2.4.1.1. Os valores experimentais de massa de extrato recolhidas em cada ponto do experimento também estão apresentados no Anexo III.

#### 2.4.2.3 RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO: PLE E SWE

Ensaio de PLE foram realizados em pressão constante de (10 MPa), temperatura constante de (80 °C) e vazão de solvente (3 mL min<sup>-1</sup>), cujos parâmetros foram definidos baseado em Lasta et al. (2019). A variável de processo considerada neste estudo foi o tipo de solvente utilizado: etanol P.A, representando ensaio PLE1 e a mistura de etanol/água (70:30 v/v), ensaio PLE2. O emprego de água pressurizada como solvente (PLE com água

subcrítica ou SWE) foi realizado na pressão de 10 MPa, 160 °C e água destilada (100%), previamente submetida a ultrassom por 15 minutos e filtrada, esse ensaio foi nomeado como SWE1 e cuja condição de processo foi definida baseado em Rodrigues et al. (2019). Os extratos obtidos passaram por processo de eliminação do solvente, o extrato PLE1 passou por evaporador rotativo (Fitason Modelo 802, São Paulo/SP – Brasil); PLE2 foi submetido ao evaporador rotativo (Fitason Modelo 802, São Paulo/SP - Brasil), seguido de liofilização (L101, Liotop, São Carlos, Brasil). A amostra SWE1 foi submetida a congelamento, seguido de liofilização (L101, Liotop, São Carlos, Brasil).

O rendimento dos ensaios PLE e SWE foram determinados de maneira análoga a seção 2.4.1.2. As extrações foram realizadas em duplicata e os resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

## 2.5 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

Os extratos de casca de amendoim obtidos pelas diferentes técnicas e solventes de extração foram avaliados em termos do teor de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante (captura do radical DPPH, poder de redução do íon férrico -FRAP, método do radical ABTS<sup>+</sup> e descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico).

### 2.5.1 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)

O teor de compostos fenólicos totais das amostras de extrato foi realizado por meio do método Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965; SINGLETON et al., 1999).

Com o objetivo de construir uma curva analítica de ácido gálico P.A., preparou-se uma solução padrão de ácido gálico com concentração de 2 mg mL<sup>-1</sup> (10 mg de ácido gálico em 5 mL de água). Em eppendorf de 1,5 mL foram diluídas alíquotas da solução de ácido gálico (2 mg mL<sup>-1</sup>) para a obtenção de frações finais entre 1,8 – 0,031 mg mL<sup>-1</sup>. Em seguida preparou-se uma solução padrão 20% (m/v) de carbonato de sódio (Dinâmica, Brasil, 99% pureza), 20 g de carbonato de sódio em 100 mL de água. Na sequência, as amostras foram diluídas em 1 mL dos seus respectivos solventes, formando assim a solução mãe do extrato. A reação de oxidação foi realizada em eppendorfs de 1,5 mL (um para cada amostra e um para o branco), nos quais foram adicionados 10  $\mu$ L da solução de extrato ou das soluções de ácido gálico (para construção da curva analítica), para o branco foi adicionado 10  $\mu$ L do respectivo solvente utilizado em cada extração, 50  $\mu$ L do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, USA, 99% pureza). Após a agitação e

repouso por 1 min, 150  $\mu\text{L}$  da solução de carbonato de sódio (20% m/v) foi adicionado ao eppendorf. Por fim, adicionou-se 190  $\mu\text{L}$  de água em cada eppendorf, completando o volume final de 1 mL. Após nova agitação, os eppendorfs foram colocados em repouso por 2 horas, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Decorrido as 2 horas, 30  $\mu\text{L}$  de cada amostras foram pipetadas em microplacas (em triplicata) e submetidas a leitura em espectrofotômetro (Multileitora Infinite M2000 TECAN), localizado no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) no comprimento de 760 nm. A curva analítica de ácido gálico foi representada por um gráfico de absorvância *versus* concentração de ácido gálico ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) e está apresentada no Anexo IV.

Os valores de absorvância média para cada tipo de extrato foram correlacionados com uma curva analítica padrão através da substituição dos valores de absorvância média obtidos para cada amostra na equação da curva analítica e o teor de compostos fenólicos totais (CFT) foram expressos em  $\text{mg GAE g}^{-1}$  de extrato e  $\text{mg GAE g}^{-1}$  de sólido seco conforme a Equação 11.

$$\text{CFT} \left( \frac{\text{mgGAE}}{\text{g}_{\text{Extrato}}} \right) = \frac{\text{GAE}}{\text{C}_{\text{Extrato}}} \times 100 \quad \text{Equação 11}$$

Sendo, GAE representa o equivalente em ácido gálico, obtido pela curva analítica ( $\text{mg GAE L}^{-1}$ ),  $\text{C}_{\text{Extrato}}$  representa a concentração do extrato ( $\text{mg}_{\text{Extrato mL}^{-1}}$ ) e  $X_0$  o rendimento de extração (%).

### 2.5.2 MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH

A capacidade antioxidante pelo método do radical 1,1-difenil-2-picrilidrazina (DPPH) foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995). Primeiramente os extratos do subproduto do processamento do amendoim foram diluídos em eppendorfs nos seus respectivos solventes de extração (com concentrações finais entre 0,00125 a 0,02  $\text{mg mL}^{-1}$ ). Na sequência, uma solução estoque de DPPH (125  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) foi preparada adicionando-se 4,929 mg de DPPH (Sigma Aldrich, USA, 99,5% pureza) em 100 mL de etanol e armazenada em frasco âmbar. O meio reacional se deu pela adição de 50  $\mu\text{L}$  de cada extrato com 250  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH (125  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em microplacas. Preparou-se para cada solvente utilizado um branco, adicionando-se 50  $\mu\text{L}$  do solvente e 250  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH (125  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Decorridos 30 minutos de reação ao abrigo da luz, as absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro (Multileitora Infinite M2000 TECAN), localizado no Laboratório Multiusuário de

Estudos em Biologia (LAMEB) no comprimento de 517 nm. Os valores de absorvância encontrados foram correlacionados com a curva padrão de Trolox (Sigma Aldrich, USA, 97% pureza) de concentrações entre 12,5 – 250  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , a qual se encontra no Anexo IV.

O percentual de redução do radical DPPH foi obtido pela Equação 12 para cada extrato (em triplicata), os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  extrato e  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  sólido seco.

$$\% \text{ redução} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{branco}}} \right) \right] * 100 \quad \text{Equação 12}$$

Sendo,  $\text{Abs}_{\text{amostra}}$  representa a absorvância da amostra,  $\text{Abs}_{\text{branco}}$  a absorvância do branco.

### 2.5.3 MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS

Para a determinação da capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS utilizou-se a metodologia descrita por Re et al. (1999). A solução  $\text{ABTS}^+$  foi preparada reagindo 7  $\text{mmol L}^{-1}$  de uma solução estoque de ABTS (Sigma Aldrich, USA, >99% pureza) com 2,45  $\text{mmol L}^{-1}$  de uma solução de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , (Dinâmica, Brasil, 99% pureza) ambos preparados com água) por 16 horas ao abrigo da luz, em temperatura ambiente, para a estabilização do radical. Decorrido 16 horas, a solução ABTS foi diluída em água destilada até uma absorvância de 0,75 ( $\pm 0,05$ ) a 734 nm.

O Trolox (Sigma Aldrich, USA, 97% pureza) foi utilizado para a construção de uma curva padrão (25 a 400  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) em etanol. A reação se deu pela adição de 20  $\mu\text{L}$  do extrato (previamente diluído em seu respectivo solvente) e 280  $\mu\text{L}$  de  $\text{ABTS}^+$  (em triplicata), seguido da incubação por 30 minutos a temperatura ambiente e leitura em espectrofotômetro (Multileitora Infinite M2000 TECAN), localizado no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) no comprimento de 734 nm. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  extrato e  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  sólido seco. Os valores de absorvância encontrados foram correlacionados com a curva padrão de Trolox, a qual se encontra no Anexo IV.

#### 2.5.4 MÉTODO DE REDUÇÃO DO ÍON FÉRRICO – FRAP

A identificação de compostos antioxidantes de íons férrico foi determinada através da metodologia descrita por Benzie e Strain (1996) e Herald et al. (2012). A metodologia se deu inicialmente pelo preparo de 4 soluções: (1) Solução tampão de acetato de sódio 0,3 mol L<sup>-1</sup> (pH 3,6): formada por 1,87 g de acetato de sódio anidro (Êxodo, Brasil, 99,8% pureza), 16 mL de ácido acético glacial (Sigma Aldrich, USA, 99,7% pureza) e água; (2) solução de ácido clorídrico P.A.-A.C.S. (Synth, Brasil)(40 mmol L<sup>-1</sup>): 3,31 mL de HCl em 1 L de água; (3) solução de cloreto férrico P.A (Synth, Brasil) (FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20 mmol L<sup>-1</sup>): 0,135 g de FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O em 25 mL de água e (4) solução TPTZ (Sigma Aldrich, USA, 99% pureza)- 2,4,6 – trifidril-s-tiazina 10 mmol L<sup>-1</sup>: 0,01927 g de TPTZ e 6 mL da solução 2 (ácido clorídrico – 40 mmol L<sup>-1</sup>).

Por fim, a solução FRAP foi formada adicionando 60 mL da solução tampão de acetato de sódio (solução 1) com 6 mL da solução de TPTZ (solução 4) e 6 mL da solução de cloreto férrico - FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, 20 mmol L<sup>-1</sup> (solução 3).

O meio reacional constituiu da adição de 10 µL de cada amostra (previamente diluída em seu respectivo solvente) e 290 µL da solução FRAP. Para cada solvente foi feito um branco (10 µL de cada solvente + 290 µL da solução FRAP). A reação se deu em 30 minutos, ao abrigo da luz. Decorridos 30 minutos de reação as microplacas foram lidas em espectrofotômetro (Multileitora Infinite M2000, TECAN) no comprimento de onda de 593 nm. O Trolox (Sigma Aldrich, USA, 97% pureza) foi utilizado como referência para a construção de uma curva padrão (Anexo IV). Os resultados foram expressos os resultados em µmol TE g<sup>-1</sup> extrato e µmol TE g<sup>-1</sup> sólido seco.

#### 2.5.5 MÉTODO DE DESCOLORAÇÃO DO SISTEMA β-CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

O método da descoloração do sistema β-caroteno/ácido linoleico, aplicado para a determinação da capacidade antioxidante dos extratos do subproduto do processamento amendoim foram realizado de acordo com a metodologia descrita por Kang et al. (2006) e Matthäus (2002).

A análise se deu inicialmente pela preparação da solução de extrato e pelas emulsões do β-caroteno/ácido linoleico e do branco, conforme descritas a seguir: (1) preparação da solução de extratos: 0,005 g de cada extrato dissolvidas em 3 mL do respectivo solvente utilizado na extração (16,67 mg mL<sup>-1</sup>), em tubos de ensaios; (2)

emulsão do  $\beta$ -caroteno: 0,0034 g de  $\beta$ -caroteno (Sigma Aldrich, USA, 95% pureza), 0,4g de Tween 20 (Sigma Aldrich, USA), 44  $\mu$ L de ácido linoleico (Sigma Aldrich, USA, 99% pureza), dissolvidos com 5 mL de clorofórmio em frasco âmbar. Após a solubilização da emulsão o clorofórmio P.A. (Synth, Brasil) foi evaporado em rotaevaporador (Fisatom, Mod. 801, São Paulo/SP, Brasil). Por fim, 100 mL de água destilada foi adicionado e a solução homogeneizada; (3) emulsão do branco: 0,4 g de Tween 20, 44  $\mu$ L de ácido linoleico e 100 mL de água destilada, em frasco âmbar.

Após a preparação das soluções e em eppendorfs, adicionou-se 40  $\mu$ L da solução do extrato e 1 mL da emulsão de  $\beta$ -caroteno e eppendorfs e em triplicata. Fez-se o mesmo procedimento para o branco, adicionando-se 40  $\mu$ L da solução do extrato e 1 mL da emulsão do branco (sem  $\beta$ -caroteno). Para o controle, adicionou-se 40  $\mu$ L do respectivo solvente e 1 mL da emulsão do  $\beta$ -caroteno. Após esse procedimento, realizou-se a leitura em 470 nm (tempo 0) e alocou-se os eppendorfs em banho termostático ao abrigo da luz e a uma temperatura de 50°C por 2 horas. Decorridos 2 horas realizou-se novamente a leitura em absorvância de 470 nm (tempo 2). O percentual de atividade antioxidante foi calculado pela Equação 13 e os resultados foram expressos como

$$\% \text{ AA} = 1 - \left[ \left( \frac{\text{Abs}_{t=2} - \text{Abs}_{t=0}}{\text{Abs}_{\text{controle } t=2} - \text{Abs}_{\text{controle } t=0}} \right) * 100 \right] \quad \text{Equação 13}$$

Onde: % AA: atividade antioxidante;  $\text{Abs}_{t=2}$ : valor de absorvância da amostra lido após 2 horas de reação;  $\text{Abs}_{t=0}$ : absorvância da amostra lida no tempo 0;  $\text{Abs}_{\text{controle } t=2}$ : absorvância do controle lida após decorrido 2 horas de reação;  $\text{Abs}_{\text{controle } t=0}$ : absorvância do controle lido no tempo 0.

## 2.6. INIBIÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

A avaliação *in vitro* da inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase (salivar humana e pancreática suína), atividade da acetilcolinesterase dos extratos obtidos foram realizadas na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), câmpus Campo Mourão.

### 2.6.1 AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA $\alpha$ -AMILASE

A determinação da inibição da  $\alpha$ -amilase em termos de  $\text{IC}_{50}$  (concentração de extrato necessária para causar inibição de 50% na atividade enzimática) foi realizada conforme metodologia descrita por Silva et al. (2014), com algumas modificações. A  $\alpha$ -amilase pancreática suína (Tipo VI-B,  $\geq 10$  unidades  $\text{mg}^{-1}$  de sólido, Sigma Aldrich) e a

$\alpha$ -amilase salivar humana (Tipo IXA, 87,5 unidades  $\text{mg}^{-1}$  de sólido, Sigma Aldrich) foram solubilizadas em tampão fosfato (40  $\text{mmol L}^{-1}$ , Vetec, 99% pureza) e NaCl (13,4  $\text{mmol L}^{-1}$ , Proquímicos, 99% pureza), pH 6,9. O amido de batata (Sigma Aldrich, USA) foi utilizado como substrato (1% em água). Os extratos do subproduto do processamento do amendoim foram avaliados como inibidores nas concentrações finais de 6000, 3000, 1500, 750 e 150  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (solubilizados inicialmente em etanol P.A, com exceção da amostra SWE1 solubilizada em água), sendo a reação iniciada pela adição da enzima.

A concentração de enzima adicionada a cada sistema de reação foi de 74  $\text{U mL}^{-1}$  para ambas as enzimas. A reação foi mantida por 15 minutos em um banho com temperatura controlada a 37 °C. Os açúcares redutores produzidos pela hidrólise de amido foram mensurados pelo método do ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS, Inlab) em comprimento de onda de 540 nm (MILLER, 1959).

Para análise dos resultados foi utilizado o método de interpolação numérica com a equação de Stineman Wagon (1999) para calcular as concentrações dos extratos que foram capazes de inibir a atividade enzimática em 50% ( $\text{IC}_{50}$ ). O *software* utilizado foi o programa Scientist da *MicroMath Scientific Software* (Salt Lake City, UT, USA).

## 2.6.2 INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE (AChE)

A atividade da acetilcolinesterase (AChE; E.C. 3.1.1.7 de enguia, Sigma Aldrich) foi realizada conforme modificações no método de Ellman et al. (1961). Em placa de 96 poços, os seguintes reagentes foram pré-incubados durante 10 min a 25 °C: TFK (90  $\mu\text{L}$ ; 50  $\text{mmol L}^{-1}$ ), água destilada (45 ou 55  $\mu\text{L}$ ) e AChE (15  $\mu\text{L}$ ; 0,09  $\text{U mL}^{-1}$ ). Além disso, foi adicionado ESC1, ESC2, PLE1, SOX1, SOX2, SOX3 e SOX4 (10  $\mu\text{L}$ ; 5  $\text{mg mL}^{-1}$  em etanol), PLE2 (10  $\mu\text{L}$ ; 0,5, 1, 2 e 5  $\text{mg mL}^{-1}$  em etanol) e SWE1 (10  $\mu\text{L}$ ; 5  $\text{mg mL}^{-1}$  em água destilada). O controle foi incubado com etanol P.A. (10  $\mu\text{L}$ ) ou água destilada (10  $\mu\text{L}$ ). Após a incubação, foi adicionado DTNB (Sigma Aldrich, USA, 98% pureza) (20  $\mu\text{L}$ ; 0,2  $\text{mmol L}^{-1}$ ) e iodeto de acetiltiocolina (Sigma Aldrich, USA, 99% pureza) (ASCh; 20  $\mu\text{L}$ ; 800  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). A absorbância foi quantificada a 412 nm durante 4 minutos a cada 60 segundos utilizando espectrofotômetro (Thermoplate TP-Reader). A concentração que inibiu 50% da atividade da AChE ( $\text{IC}_{50}$ ) quando comparado com o controle foi determinada por meio de regressão não-linear.



## 2.7 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

Os extratos obtidos por extração Soxhlet com hexano (SOX1) e os extratos obtidos por extração supercrítica (SFE1 e SFE2) foram avaliados em termo de perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massa (CG-MS) de acordo com a metodologia proposta por Shin et al. (2010), com modificações.

Inicialmente os extratos foram submetidos a um processo de metilação direta proposta por O'Fallon et al., (2007). Em tubos falcon foram adicionados 0,5 g de cada extrato, 0,7 mL de KOH (Sigma Aldrich, USA, 98% pureza) 10 N, 5,3 mL de metanol P.A. e na sequência agitados. Os tubos foram incubados a 55 °C em banho maria e em estufa por 1,5 h (com agitação a cada 20 minutos). Em seguida, foram adicionados 0,58 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 24 N (Sigma Aldrich, USA, 95% pureza) e os tubos foram novamente incubados a 55 °C, com agitação a cada 20 minutos. Os tubos foram resfriados e adicionou-se 3 mL de hexano P.A e sendo agitados em vórtex por mais 5 minutos. Por fim os tubos foram centrifugados por 5 minutos e os sobrenadantes recolhidos e submetidos a análise de CG-MS

A identificação dos ácidos graxos se deu em um cromatógrafo gasoso Agilent 7890A GC System, usando uma coluna Agilent 19091S-433HP-5MS (30 m x 250 µm x 0,25 µm). A coluna foi aquecida a 130 °C e mantida a essa temperatura, com rampa de 4 °C min<sup>-1</sup> até 240 °C, e mantida a essa temperatura por 15 min.

A identificação dos componentes dos óleos essenciais foi realizada pela comparação dos tempos de retenção dos picos observados nas amostras em relação aos padrões disponíveis na biblioteca NIST 11 (*National Institute of Standards and Technology*, USA). Os Ácidos Graxos foram quantificados através do método da normalização das áreas dos picos e os resultados foram expressos em percentual.

## 2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de rendimento, teor de fenólicos, atividade antioxidante e atividade enzimática foram reportados como média ± desvio padrão. O teste de Tukey foi aplicado a fim de identificar as diferenças significativas entre as médias. Adicionalmente, foi realizada a análise de correlação de Pearson, com o intuito de compreender a inter-relação da atividade antioxidante dos extratos e o teor de compostos fenólicos (CFT) presente nos

mesmos. As análises foram realizadas com uso do *software* Statistica 13, admitindo nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

Os valores de umidade, o diâmetro médio de partículas e a massa específica real que caracterizam a matéria prima são apresentados na Tabela 5. A imagem recuperada no ensaio de tamanho de partícula pode ser vista na Figura 22 do Anexo II. Estes parâmetros são importantes para a padronização e caracterização do leito de extração e posterior avaliação dos mecanismos de transferência de massa envolvidos no sistema.

Tabela 5 - Parâmetros de caracterização da matéria prima e do leito fixo de partículas.

Parâmetro	Resultados*
Umidade (% b. u.)	7,99 ± 0,07
Diâmetro médio de partícula (mm)	0,39 ± 0,11
Massa específica real ( $\text{g cm}^{-3}$ )	1,29 ± 0,01

\*Valores expressos por média ± desvio padrão.

Fonte: Autor

De acordo com Arias et al. (2020), o tamanho de partícula, e conseqüentemente a massa específica do sólido, são parâmetros importante para a descrição dos mecanismos de transferência de massa do processo de extração. Os resultados encontrados para a matéria prima utilizada no presente trabalho em relação ao diâmetro médio de partícula e massa específica real foram de 0,39 mm e  $1,29 \text{ g cm}^{-3}$ , respectivamente.

Putra et al. (2018) avaliaram o efeito do diâmetro de partícula (300, 355, 425 e 500  $\mu\text{m}$ ) no rendimento de extração e atividade antioxidante em pele de amendoim utilizando extração não convencional (fluido supercrítico com 5% de etanol como cossolvente, 10 MPa e 40 °C) e convencional (Soxhlet, com hexano como solvente). Partículas com diâmetro de 425  $\mu\text{m}$  (valor próximo ao diâmetro de partícula encontrada no presente trabalho) apresentaram um maior rendimento de extração, 15,53% e 36,28% para extração com fluido supercrítico e extração Soxhlet, respectivamente e também apresentaram maior maiores atividades antioxidantes (determinado pelo método DPPH), sendo 93,43% para fluido supercrítico e 62,21% para extração Soxhlet.

De acordo com os dados da Tabela 5 observa-se a umidade final da matéria prima de 7,99%, valor que se encontra na faixa recomendável por Alves et al. (2019), de 3-10%, não necessitando de uma etapa prévia de secagem. A umidade da matéria prima é uma

característica importante, uma vez que o teor de água tem influência direta na extração da fração lipídica presente na matéria prima, baixo teor de umidade facilita a extração da fração lipídica por SFE, uma vez que a água presente na matéria prima pode atuar como uma barreira, afetando diretamente a difusividade do solvente na matriz vegetal (LOPES et al., 2020).

### 3.2 CINÉTICA DE EXTRAÇÃO (SFE, PLE e SWE)

Estudos cinéticos foram realizados para definir o tempo de extração, mediante a detecção das etapas CER, FER e DC. Para SFE a cinética foi determinada em 20 MPa, 40 °C e 1 kg CO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup>; para PLE e SWE foram empregadas as condições de 10 MPa, 80 °C e etanol (100%) a 3 mL min<sup>-1</sup> e 10 MPa, 160 °C e água (100%) a 3 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente.

Os parâmetros do modelo de regressão linear foram obtidos com o *software* Origin Pro 2019. Os tempos de extração para os diferentes métodos estão apresentados nas Tabela 6 e 7 e as curvas cinéticas são apresentadas na Figura 15. De acordo com Ferro et al. (2020), a determinação do tempo de extração é importante para avaliar os viabilidade econômica do processo.

Tabela 6 - Parâmetros do modelo de regressão linear por partes das extrações a altas pressões: SFE, PLE e SWE.

Parâmetros	ESC	PLE	SWE
<b>a<sub>1</sub> (g)</b>	-1,556	0,008	0,185
<b>k<sub>1</sub> (g/min)</b>	0,029	0,103	0,059
<b>t<sub>CER</sub> (min)</b>	128	11	13
<b>k<sub>2</sub> (g/min)</b>	0,006	0,015	0,016
<b>t<sub>FER</sub> (min)</b>	190	28	48
<b>k<sub>3</sub> (g/min)</b>	0,001	0,003	0,060
<b>R<sup>2</sup></b>	0,999	0,998	0,996

Fonte: Autor

Sovová (1994) apresentou uma abordagem para classificar as etapas cinéticas de SFE, podendo ser adaptada para outras técnicas, como PLE e SWE. A cinética de extração à altas pressões, segundo Sovová (1994), pode ser dividida em três etapas, CER, FER e DC. A etapa CER, relativa à etapa de velocidade constante de extração foi estimada para os intervalos (Tabela 7): de 0 – 128 min. para SFE; de 0 - 11 min para PLE e de 0 - 13 min para SWE. Como esperado, o rendimento da etapa CER 23,53%; 23,00% e 19,06% para SFE, PLE e SWE, respectivamente. Estes valores equivalem a 86,3 %; 75,4% e 53%

do total extraído em cada método, SFE, PLE e SWE, respectivamente. Esse fato é justificado pela prevalência do fenômeno de convecção nesta etapa, ocorrendo a recuperação do soluto de fácil acesso (superficial). É possível observar na Figura 15 (b) uma coloração vermelha intensa para a cinética referente ao PLE e uma coloração marrom escura para a SWE na Figura 15 (c), isso ocorre porque há soluto de fácil acesso na superfície da partícula e o soluto facilmente recuperável é extraído em até 11 e 13 minutos para PLE e SWE, respectivamente (SOVOVÁ, 1994).

Na sequência etapa FER o processo combina mecanismos de convecção (a matéria prima ainda possui uma parte do soluto livre na superfície), com difusão (pela exaustão de parte do soluto “livre” na área superficial da partícula, permitindo que o solvente penetre na partícula para solubilizar o soluto de seu interior). Na etapa final (DC), controlada pela difusão, assume-se que todo o soluto superficial esgotou e apenas a difusão controla os mecanismos de transferência de massa. Partículas maiores, intactas ao processo de pré-tratamento matéria prima (moagem), ainda apresentam seus compostos de interesse em seu interior, dificultando a extração destes e diminuindo a taxa de extração. Esse fenômeno pode ser observado pela diminuição da inclinação da reta que representa a etapa FER na Figura 15 e também pelo decaimento das colorações vermelha, Figura 15 (b) e marrom, Figura 15 (c). Essa etapa no presente trabalho foi estimada nos intervalos de tempo 128-190, 11-28 e 13-48 min para SFE, PLE e SWE, respectivamente. Nessa etapa há uma diminuição considerável do rendimento de extração, sendo 2,40% (SFE), 5,40% (PLE) e 0,57% (SWE). Por fim, acontece a etapa difusional (DC), ao término da extração do soluto de fácil acesso, a extração é dominada pelo fenômeno difusivo. É evidente que ao término da etapa CER a coloração do extrato recolhido apresenta-se nitidamente com uma coloração bem clara para a PLE, como visto na Figura 15 (b) e uma coloração marrom clara para SWE, Figura 15 (c).

Com base nos rendimentos observados, o tempo de extração foi determinado no tempo correspondente ao segundo ponto da etapa DC, garantindo assim que a extração esteja na fase decrescente. Para SFE, o tempo foi definido como 270 min, para alcançar 97,90% do rendimento total. Para PLE com etanol o tempo foi definido em 40 minutos, relativo a 97,10% do rendimento total. Para SWE o tempo de 80 minutos foi definido para alcançar 95,73% do rendimento total.

Bodoira et al. (2017) otimizaram por meio de um planejamento experimental Box-Behnken a extração de compostos fenólicos da pele de amendoim utilizando como

solvente uma mistura de etanol/água (60,5:39,5 v/v) a 200 °C e uma vazão de 7 g/min, estudos cinéticos do ponto ótimo mostraram uma alta taxa de extração de compostos fenólicos (94,42%) nos primeiros 30 minutos de extração, corroborando com o resultado do presente trabalho.

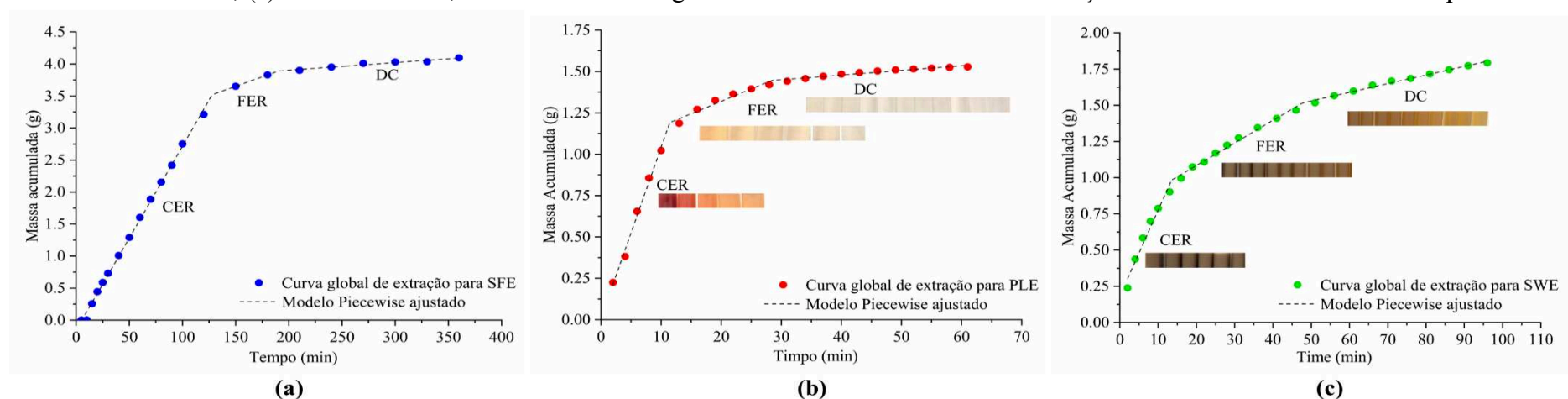
Tabela 7 - Parâmetros cinéticos de extração do resíduo do processamento do amendoim com SFE a 20 MPa, 40 °C e 1 kg de CO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup>, PLE a 10 MPa, 80 °C e 1 mL de etanol min<sup>-1</sup> e SWE a 10 MPa, 160 °C e 1 mL de água min<sup>-1</sup>.

Parâmetros	Extração supercrítica (SFE)			Extração com líquido pressurizado (PLE)			Extração com água subcrítica (SWE)		
	CER <sup>e</sup>	FER <sup>f</sup>	DC <sup>g</sup>	CER <sup>e</sup>	FER <sup>f</sup>	DC <sup>g</sup>	CER <sup>e</sup>	FER <sup>f</sup>	DC <sup>g</sup>
t (min) <sup>a</sup>	0-128	128-190	190-360	0-11	11-28	28-61	0-13	13-48	48-96
m (g) <sup>b</sup>	3,53	0,36	0,20	1,15	0,27	0,11	0,95	0,57	0,28
X <sub>0</sub> (%) <sup>c</sup>	23,53	2,40	1,33	23,00	5,40	2,16	19,06	11,30	5,50
Y (g óleo/g CO <sub>2</sub> ) <sup>d</sup>	1,74.10 <sup>-3</sup>	3,60.10 <sup>-4</sup>	6,00.10 <sup>-5</sup>	6,18.10 <sup>-3</sup>	9,00.10 <sup>-4</sup>	1,80.10 <sup>-4</sup>	3,54.10 <sup>-3</sup>	9,60.10 <sup>-4</sup>	4,20.10 <sup>-4</sup>
Tempo de extração	270 min			40 min			80 min		

<sup>a</sup> Duração da etapa <sup>b</sup> Massa de extrato <sup>c</sup> Rendimento <sup>d</sup> Concentração do soluto no solvente <sup>e</sup> Etapa de extração constante <sup>f</sup> Etapa de extração decrescente <sup>g</sup> Etapa difusional

Fonte: Autor

Figura 15 - Curva cinética para as extrações não convencionais (a) SFE á 20 MPa, 40 °C e 1 kg de CO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> e (b) PLE a 10 MPa, 80 °C e 1 mL de etanol min<sup>-1</sup>; (c) SWE a 10 MPa, 160 °C e 1 mL de água min<sup>-1</sup> com o decaimento da coloração do extrato no decorrer do tempo.



Fonte: Autor

### 3.3 RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRAÇÃO ( $X_0$ )

Os resultados referentes ao rendimento global de extração obtidos pelos diferentes métodos para o resíduo do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.), bem como os parâmetro empregados em cada técnica, são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Rendimento global ( $X_0$ ) obtidos por extrações Soxhlet e não convencionais (SFE, PLE e SWE) obtidos por diferentes solventes e em diferentes condições de pressão, temperatura.

Extrato	Parâmetros de extração	<sup>5,6</sup> Rendimento (%)
SOX1	<sup>1</sup> Hex	37,65 <sup>a</sup> ± 0,04
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	35,30 <sup>a</sup> ± 0,38
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	19,62 <sup>c,d</sup> ± 0,50
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	12,94 <sup>d</sup> ± 1,19
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	26,11 <sup>b,c</sup> ± 0,74
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	20,94 <sup>c,d</sup> ± 1,30
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80 °C	29,75 <sup>a,b</sup> ± 4,82
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	16,97 <sup>d</sup> ± 0,34
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	37,63 <sup>a</sup> ± 3,18

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão <sup>6</sup>Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p>0,05) para o Teste de Tukey.

Fonte: Autor

Dentre os métodos convencionais à baixa pressão, a extração Soxhlet é o método mais comumente empregado (HELENO et al., 2016). É evidente pela análise da Tabela 8 que o maior rendimento verificado na extração Soxhlet foi com a utilização com o hexano como solvente (37,65%), seguido do etanol (35,30%), etanol/água (70:30 v/v) (19,62%) e por fim da água (12,940%).

Em geral, extrações Soxhlet apresentam maiores rendimentos devido a características como, as altas temperaturas, reciclagem do solvente, interações soluto/solvente e o maior intervalo de tempo de processo, no método Soxhlet, contribuem para a maior solubilização de componentes da matéria prima. Além disso, como o processo é realizado à temperatura de ebulição do solvente, altas temperaturas de ebulição reduzem a tensão superficial e a viscosidade do solvente, aumentando a solubilização do soluto, aliado com a solubilidade de diferentes compostos na matéria, sendo, por essa razão, conhecido como um método de extração semi-seletivo (DIAS et al., 2019; FERRO et al.; 2019).

Também é evidente, pela análise da Tabela 8, que o método SFE apresentou altos rendimentos, apresentando valores de 26,11% e 20,94%, para SFE1 e SFE2 respectivamente. Os rendimentos obtidos com Soxhlet (com hexano) e com extração supercrítica não apresentaram diferenças significativas entre si. Com isso, é válido lembrar que enquanto a extração Soxhlet ocorre durante 6 horas com posterior separação do solvente, a extração supercrítica fornece extratos com rendimentos estatisticamente iguais em 270 minutos de extração, não necessita etapas subsequentes de eliminação do solvente.

O curto de tempo de extração está diretamente interligado com a redução do consumo de energia e conseqüentemente um menor custo de processo. Entretanto diversos parâmetros devem ser levados em consideração na avaliação da viabilidade econômica do processo de extração supercrítica. Dentre os mais relevantes, pode-se citar os investimentos iniciais, tempo de operação, custo com a mão de obra, umidade da matéria prima e conseqüentemente os custos referentes a secagem da matéria prima, pressões e temperaturas de processo, custo com solvente entre outros (COMIM et al., 2010).

Outra vantagem se diz respeito a utilização de um solvente verde ( $\text{CO}_2$ ) nas extrações supercrítica, enquanto que na extração Soxhlet utiliza-se um solvente tóxico (hexano). Adicionalmente, a temperatura crítica do  $\text{CO}_2$  (31,1 °C) é menor em relação à temperatura de ebulição do hexano (69 °C), evitando assim a decomposição de compostos termossensíveis (HERRERO et al., 2013).

Os altos rendimentos obtidos nas técnicas Soxhlet com hexano e SFE pode ser justificado pelo fato de que a matéria-prima do presente trabalho apresenta, além da pele do amendoim, pequenas partes quebradas da semente, pois representa um resíduo de processamento industrial, com pequenos fragmentos e pó de amendoim (Figura 22, Anexo III), com alto teor de matéria lipídica (ácidos graxos) sendo facilmente solubilizáveis em hexano e  $\text{CO}_2$  supercrítico, o que conferiu para estes ensaios, os altos rendimentos.

Os resultados PLE com etanol e etanol/água, a 10 MPa e 80 °C possibilitaram rendimentos de 29,746% e de 16,974%, respectivamente (Tabela 8). Apesar de álcoois, como etanol, serem comumente utilizados para extração de compostos fenólicos, o etanol é considerado um solvente não seletivo, recuperando uma vasta gama de compostos



(muitas vezes indesejáveis), dificultando as etapas adjacentes, como quantificação e purificação, quando o objetivo é recuperar compostos polares, como compostos fenólicos (MARTINS et al., 2014). Além disso, extração Soxhlet e extração PLE (etanol/água 70:30 v/v) não apresentaram diferenças significativas quanto ao rendimento, sendo PLE uma alternativa de extração mais ecológica e ambientalmente amigável, uma vez que o tempo de processo é significativamente menor (40 minutos) quando comparado a extração Soxhlet (6 horas).

Em relação às técnicas de extração realizadas com água como solvente, a realizada com água subcrítica (37,63%) apresentou rendimento superior a realizada com a extração Soxhlet (12,94%). Extrações com água pura podem prover extratos com alto conteúdo de ácidos orgânicos, açúcares hidrossolúveis (como, pectinas, mucilagens, gomas e hemicelulose) e proteínas, além de compostos fenólicos (MOKRANI e MADANI, 2016). É importante ressaltar que as extrações com água subcrítica foram realizadas em um intervalo de tempo de 80 minutos, enquanto extrações Soxhlet levaram 6 horas. O curto de tempo de extração, bem como os altos rendimentos e a seletividade desse método são fatores que afetam positivamente a viabilidade econômica do processo (VEGGI et al., 2014).

Putra et al. (2018) realizaram um estudo comparativo entre métodos de extrações convencionais (Soxhlet) e não convencional (SFE) em termos de rendimento de matéria lipídica e catequina. Os extratos obtidos com SFE a 30 MPa, 70 °C e vazão de CO<sub>2</sub> de 3 mL min<sup>-1</sup> e 5% de etanol como cossolvente apresentaram um maior rendimento de 15,53% com um teor de catequina de 139,92 µg de catequina g<sup>-1</sup> de amostra. Comparativamente, extração Soxhlet com n-hexano apresentaram um maior rendimento (36,28% com etanol, 32,81% com água e 16,25% com n-hexano), entretanto, apresentaram um baixo conteúdos de catequina, sendo 31,79, 42,47 µg de catequina g<sup>-1</sup> de amostra para as extrações com etanol e água. Extrações com n-hexano não apresentaram conteúdo significativo de catequina.

Além de fatores relacionados a extração (como solvente, temperatura, pressão, tempo de extração entre outros) outros fatores podem influenciar no rendimento de extração. Van Ha et al. (2007) avaliaram a composição de extratos obtidos de três diferentes amostras de pele de amendoim do tipo *Virginia* cultivados na China. Os extratos foram obtidos sequencialmente por maceração (24 h para cada solvente), com os seguintes solventes, hexano, acetato de etila e metanol. Os extratos obtidos por metanol

apresentaram maiores rendimentos (25,06 a 30,42%), seguido dos extratos lipídicos, obtidos com hexano (7,00 a 11,09%) e por fim os extratos oriundos da extração com acetato de etila (4,08 a 5,77%). Resultado distinto aos resultados obtidos no presente trabalho, o qual pode ser justificado pelos diferentes solos dos cultivares de amendoim, a variedade (tipo *Runner* analisado no presente trabalho e *Virginia* avaliado pelo autor) e também pela etapa de retirada da fração lipídica, como uma etapa antecessora da extração de compostos fenólicos, com solventes polares (como metanol e acetato de etila).

Assim como a utilização do etanol como solvente de extração facilita a extração de compostos fenólicos, alguns estudos também evidenciam a sua capacidade de recuperar compostos apolares, aumentando assim o rendimento de extração. Ribeiro et al. (2020) utilizaram etanol pressurizado (15 MPa, 35 °C e 1 mL min<sup>-1</sup>) para a obtenção de extração ricos em compostos fenólicos (8,54 mg ácido gálico g<sup>-1</sup> extrato) da polpa do suco de maracujá com alta capacidade antioxidante. Dentre os compostos fenólicos encontrados, os que se apresentaram em maior quantidade foram, quercetina, naringenina e ácido gálico. Por outro lado, estudos desenvolvido por Okiyama et al. (2019) evidenciaram a eficiência da utilização do etanol na recuperação de compostos lipídicos, como ácido linolênico, com alto valor agregado, em subprodutos do processamento do cacau (casca) utilizando líquido pressurizado (60, 75 e 90 °C e 10 MPa).

Por fim, é possível a utilização de diferentes solventes (puros ou em misturas) para a recuperação de diferentes compostos, tal fato está diretamente ligado ao aumento da polaridade do solvente. Na extração com hexano e CO<sub>2</sub> supercrítico é possível a recuperação de compostos apolares (como gorduras), com o aumento da polaridade do solvente, etanol ou misturas etanol/água é possível a recuperação de compostos de polaridade média, como gorduras e compostos polares e por fim extrações com água, levam à recuperação de açúcares hidrossolúveis, proteínas e até compostos fenólicos.

### 3.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EXTRATOS

#### 3.4.1 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A quantificação dos compostos fenólicos totais dos extratos obtidos a partir do subproduto do processamento do amendoim foi avaliada de acordo com o método de Folin-Ciocalteu, para as extrações Soxhlet, SFE, PLE e SWE, conforme descrito no item 2.5.1. Os resultados estão presentes na Tabela 9 e a curva analítica de ácido gálico, utilizada para o cálculo dos compostos fenólicos totais encontra-se no Anexo III.

Tabela 9 - Compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos do subproduto do processamento do amendoim por métodos a baixa e alta pressões.

Extratos	Parâmetros de extração	<sup>5,6</sup> CFT (mg GAE g <sup>-1</sup> ext)	<sup>5,6</sup> CFT (mg GAE g <sup>-1</sup> ss)
SOX1	<sup>1</sup> Hex	1,09 <sup>f</sup> ± 0,01	0,45 <sup>g</sup> ± 0,01
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	58,80 <sup>d</sup> ± 0,54	22,56 <sup>b</sup> ± 0,21
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	77,17 <sup>c</sup> ± 0,67	16,45 <sup>d</sup> ± 0,14
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	86,00 <sup>b</sup> ± 2,05	12,09 <sup>e</sup> ± 0,29
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	1,61 <sup>f</sup> ± 0,10	0,46 <sup>g</sup> ± 0,03
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	1,94 <sup>f</sup> ± 0,03	0,44 <sup>g</sup> ± 0,01
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80 °C	24,61 <sup>e</sup> ± 0,04	7,96 <sup>f</sup> ± 0,01
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	109,52 <sup>a</sup> ± 2,37	20,20 <sup>c</sup> ± 0,44
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	84,47 <sup>b</sup> ± 2,83	34,54 <sup>a</sup> ± 1,16

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão <sup>6</sup>Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p>0,05) para o Teste de Tukey; ext: extrato; ss: sólido seco.

Fonte: Autor

Os valores de CFT dos extratos do subproduto do processamento do amendoim variaram entre 0,45 a 34,54 mg GAE g<sup>-1</sup> ss. Os extratos obtidos a altas pressões que apresentaram os melhores resultados foram os obtidos por SWE na condição de 10 MPa e 160 °C (SWE1), com 34,54 mg GAE g<sup>-1</sup> ss e PLE na condição de 10 MPa, 80 °C e etanol/água (70:30 v/v) como solvente (PLE2), com 20,20 mg GAE g<sup>-1</sup> ss.

Compostos fenólicos são constituídos por um diversificado grupo de metabólitos secundários encontrados em diversas plantas. De modo geral, compostos fenólicos são caracterizados como polares, sendo constituídos por um ou mais anéis aromáticos, conjugados a uma ou mais hidroxilas (JIMENEZ-LOPEZ et al., 2021), e por isso são mais facilmente solubilizados em solventes de maior polaridade. Tal fato pode ser confirmado pelo maior teor de compostos fenólicos em extrações que utilizaram solventes de média e alta polaridade (SOX2, SOX3, PLE2 e SWE1), como etanol, etanol/água (70:30 v/v) e água. Os extratos obtidos na extração Soxhlet com hexano e extração supercrítica apresentaram baixos teores de compostos fenólicos, sendo a extração supercrítica realizada a 20 MPa e 40 °C (SFE1) a que obteve o maior teor de compostos fenólicos (0,46 mg GAE g<sup>-1</sup> ss.). A baixa concentração de compostos fenólicos e os alto rendimentos de extração ao utilizar solventes apolares (hexano e CO<sub>2</sub>) comprovam a alta concentração de lipídeos, provavelmente com alta concentração de gorduras insaturados (óleo de amendoim) presentes na matéria prima. A recuperação dessa fração é de extrema

importância para futuras reincorporações em produtos alimentares (como fontes de ácidos graxos), enriquecendo-os, e auxiliando assim uma economia circular em indústrias de processamento do amendoim.

Em geral, extrações a altas pressões apresentaram valores de CFT maiores em relação as extrações Soxhlet para o subproduto do processamento do amendoim, com exceção das extrações realizadas com etanol como solvente, onde a extração Soxhlet apresentou valor significativamente maior que o PLE. O etanol é um dos solventes mais utilizados na extração de compostos fenólicos com capacidade antioxidante, devido a sua polaridade média (MEKAM et al., 2019). Embora a extração Soxhlet ocorra em temperaturas elevadas por um longo tempo, que podem degradar os compostos fenólicos, é possível que altas temperaturas aliadas ao reciclo do solvente tenha possibilitado a extração de uma quantidade maior de compostos fenólicos.

A maior concentração de compostos fenólicos se deu ao utilizar água subcrítica a 10 MPa e 160 °C, obtendo 34,54 mg GAE g<sup>-1</sup> ss. Bodoira et al. (2017) otimizaram através de um planejamento experimental Box-Benhken a influência dos parâmetros de processo (temperatura, vazão e a concentração do cossolvente etanol) na concentração de compostos fenólicos e outras variáveis respostas em extrações com líquido pressurizado da pele do amendoim previamente desengordurada com hexano. Ao utilizar 180 °C, 3 mL de água min<sup>-1</sup> e 7 MPa, os autores obtiveram uma concentração de 57,49 mg GAE g<sup>-1</sup> de pele de amendoim desengordurada. Valor próximo ao encontrado no presente trabalho sem a etapa prévia de retirada das frações oleosas, para extração com água subcrítica (34,54 mg GAE g<sup>-1</sup>ss). Adicionalmente, a concentração máxima de compostos fenólicos (136,09 mg GAE g<sup>-1</sup> de pele de amendoim desengordurada) encontradas pelos autores foi obtida a 220 °C, 7 mL min<sup>-1</sup> e 7 MPa e utilizando etanol/água (60,5%) como solvente.

Wang et al. (2007) avaliaram o teor de compostos fenólicos em extratos oriundos da pele de amendoim, as quais foram desengorduradas com n-hexano e na sequência submetidas a duas extrações por maceração dinâmica com uma mistura de etanol/água (50:50 v/v) como solvente por 2 x 12 horas (duas extrações consecutivas) em temperatura ambiente e na ausência de luz. Os autores encontraram valor de 97 mg GAE g<sup>-1</sup> de pele de amendoim desengordurada, valor superior ao encontrado no presente trabalho para extrações com etanol/água (70:30 v/v). O pré-tratamento da matéria prima (extração da gordura com n-hexano) e a ausência de temperatura elevada podem justificar a discrepância dos resultados obtidos pelos autores com o encontrado no presente trabalho.

A matéria gordurosa (37,646 %) presente na matéria prima pode atuar como uma barreira ao contato do solvente com os compostos fenólicos, diminuindo assim a sua recuperação. Além disso, a degradação dos compostos fenólicos termossensíveis, pela exposição a altas temperaturas, podem ter sido um fator coadjuvante para o baixo teor de compostos fenólico presentes nos extratos.

### 3.4.2 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

#### 3.4.2.1 MÉTODO DE CAPTURA DO RADICAL DPPH

Os resultados da atividade antioxidante dos extratos do subproduto do processamento do amendoim determinados pelo método de captura do 1,1-difenil-2-picrilidrazina (DPPH) e expressos em  $\mu\text{molTE g}^{-1}$  extrato e  $\mu\text{molTE g}^{-1}$  sólido seco são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim (*Arachis hypogea* L.) avaliada pelo método DPPH.

Extratos	Parâmetros de extração	<sup>5,6</sup> DPPH ( $\mu\text{molTE g}^{-1}$ ext)	<sup>5,6</sup> DPPH ( $\mu\text{molTE g}^{-1}$ ss)
SOX1	<sup>1</sup> Hex	2,32 <sup>g</sup> ± 0,17	0,95 <sup>f</sup> ± 0,07
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	152,17 <sup>c</sup> ± 0,93	58,38 <sup>b</sup> ± 0,36
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	280,70 <sup>b</sup> ± 0,83	59,85 <sup>a</sup> ± 0,18
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	133,45 <sup>e</sup> ± 0,67	18,77 <sup>d</sup> ± 0,09
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	1,95 <sup>g</sup> ± 0,11	0,55 <sup>f</sup> ± 0,03
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	2,84 <sup>g</sup> ± 0,35	0,51 <sup>f</sup> ± 0,06
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80 °C	23,19 <sup>f</sup> ± 0,75	7,50 <sup>e</sup> ± 0,24
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	319,12 <sup>a</sup> ± 4,62	58,87 <sup>a,b</sup> ± 0,85
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	138,32 <sup>d</sup> ± 0,87	56,57 <sup>c</sup> ± 0,36

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão <sup>6</sup>Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p>0,05) para o Teste de Tukey; ext: extrato; ss: sólido seco.

Fonte: Autor

Fenóis e polifenóis são excelentes antioxidantes, os quais reagem com DPPH, doando átomos de hidrogênio e estabilizando o radical. A atividade antioxidante é diretamente proporcional ao conteúdo de fenólicos totais (CHEN et al., 2020). Sendo possível observar que as maiores atividades antioxidantes, extratos SOX3 (59,85  $\mu\text{molTE g}^{-1}$  ss) e PLE2 (58,87  $\mu\text{molTE g}^{-1}$  ss), também apresentaram altos conteúdos de fenólicos totais (Tabela 10), SOX3 (16,45 mg GAE  $\text{g}^{-1}$  ss) e PLE2 (20,20 mg GAE  $\text{g}^{-1}$  ss), estas por sua vez obtidas com o mesmo solvente (etanol/água 70:30 v/v). O extrato obtido com

PLE com etanol/água (70:30 v/v) não apresentou diferença significativa comparado com os extratos Soxhlet com o mesmo solvente. Adicionalmente, menores potenciais antioxidante foram apresentadas pelos extratos apolares, SFE2 (0,51  $\mu\text{molTE g}^{-1}$  ss) e SFE1 (0,55  $\mu\text{molTE g}^{-1}$  ss) ambos com baixas concentrações de compostos fenólicos (0,44 e 0,46 mg GAE  $\text{g}^{-1}$  ss, respectivamente), e também pela amostra SOX1, obtida com o solvente apolar hexano.

A eficácia antioxidante dos compostos fenólicos pode ser explicada por dois fatores: (1) número de átomos de hidroxilas livres; (2) a posição desses átomos na molécula. Em geral, polifenóis com estruturas orto e para apresentam uma maior atividade antioxidante, devido à sua maior habilidade de doar os átomos de hidrogênio e formar estruturas do tipo quinona que são estabilizadas por ressonância (BODOIRA et al., 2017).

Este fato pode ser observado no estudo conduzido por Bansode et al. (2014), os quais identificaram por UHPLC–qTOF MS compostos fenólicos, com pelo menos duas hidroxilas na posição orto, em extratos da pele de amendoim. Dentre os compostos encontrados pode-se citar, catequina, cianidina, cianidina3-O-glucosídeo, Cianidina 3-soforosídeo, epi catequina, fisetina, genisteína, hesperetina, procianidinas A2, B1, B2, quercetina e rutina, justificando assim, a alta atividade antioxidante em extratos polares do subproduto do amendoim.

Franco et al. (2018) avaliaram a influência de parâmetros de extração (tempo, temperatura e % de etanol) na recuperação de compostos antioxidantes da pele de amendoim visando a substituição de antioxidantes sintéticos em óleos de soja. Os autores alcançaram uma redução do radical DPPH de 96,14%, para amostras obtidas por maceração dinâmica, (com posterior filtração e liofilização) realizado em 38,2 °C, com 83,8% etanol e 120 minutos de extração. Vale ressaltar que a matéria prima dos autores não era um subproduto industrial. Os amendoins foram descascados manualmente, não obtendo resquícios de amendoim, como a matéria utilizada no presente trabalho. O extrato da pele de amendoim (em diferentes concentrações) promoveu um retardo na oxidação lipídica em óleo de soja, sendo uma sendo uma alternativa natural e viável (de mesma qualidade) a conservantes sintéticos.

Fatores como, temperatura de extração, tempo e purificação podem influenciar positivamente nos resultados de atividade antioxidante. Usualmente, as altas pressões e

temperaturas, acarretam na extração de outros compostos (como proteínas e carboidratos) aos quais, os compostos fenólicos podem se ligar, diminuindo assim, sua capacidade antioxidante. Neste caso, a purificação dos extratos pode aumentar a capacidade antioxidante dos mesmos. Como exemplo, Chang et al. (2020) obtiveram extratos da pele do amendoim, previamente desengordurados com éter de petróleo, por maceração (30°C por 5 horas) utilizando como solvente uma mistura de etanol/água (70:30 v/v). Em seguida, os extratos foram purificados em uma resina AB-8 com etanol nas concentrações 20 e 40% (v/v). Os extratos apresentaram atividade antioxidantes de 7,29 mmol TE g<sup>-1</sup> de extrato (7.290 µmol TE g<sup>-1</sup> de extrato), resultado superior ao encontrado no presente trabalho.

### 3.4.2.2 MÉTODO DE REDUÇÃO DO RADICAL ABTS

Na Tabela 11 são apresentados os resultados da atividade antioxidante para o método ABTS, dos extratos do subproduto do processamento do amendoim, expressos em equivalente ao Trolox, µmolTE g<sup>-1</sup> extrato e µmolTE g<sup>-1</sup> sólido seco.

Tabela 11 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim (*Arachis hypogea* L.) avaliada pelo método ABTS.

Extratos	Parâmetros de extração	<sup>5,6</sup> ABTS (µmol TE g <sup>-1</sup> ext)	<sup>5,6</sup> ABTS (µmol TE g <sup>-1</sup> ss)
SOX1	<sup>1</sup> Hex	3,77 <sup>g</sup> ± 0,16	1,54 <sup>f</sup> ± 0,067
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	58,08 <sup>c</sup> ± 1,15	22,28 <sup>d</sup> ± 0,44
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	695,62 <sup>a</sup> ± 19,67	148,31 <sup>a</sup> ± 4,19
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	286,43 <sup>d</sup> ± 2,66	40,28 <sup>e</sup> ± 0,37
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	1,76 <sup>e</sup> ± 0,16	0,50 <sup>f</sup> ± 0,046
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	2,09 <sup>g</sup> ± 0,03	0,48 <sup>f</sup> ± 0,01
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80°C	35,73 <sup>f</sup> ± 0,82	11,55 <sup>e</sup> ± 0,27
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	542,43 <sup>b</sup> ± 9,09	100,06 <sup>b</sup> ± 1,68
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	360,17 <sup>c</sup> ± 7,13	147,29 <sup>a</sup> ± 2,92

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão <sup>6</sup>Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p>0,05) para o Teste de Tukey; ext: extrato; ss: sólido seco.

Fonte: Autor

O método do radical ABTS é comumente utilizado para avaliar o poder antioxidante de compostos de diferentes caracteres, como compostos hidrofílicos e lipofílicos. Os extratos obtidos por Soxhlet (SOX3) com etanol/água (70:30 v/v) e com água subcrítica (SWE1) apresentaram os melhores resultados de atividade antioxidante

pelo método do radical ABTS, 148,31 e 147,29  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss, respectivamente, e não diferiram significativamente entre si. Estes resultados demonstram claramente a afinidade de compostos com atividade antioxidante presentes no subproduto do processamento do amendoim com solventes de polaridade intermediária à alta. Comportamento similar foi observado por Sun et al. (2015) ao avaliar o efeito da concentração de etanol em extrações por ultrassom de própolis (por *Apis mellifera* L.). Extratos obtidos com 75% de etanol apresentaram um menor  $\text{IC}_{50}$  (520  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) para o método de captura do radical ABTS. Tal fato pode estar diretamente relacionado com a recuperação de compostos de diferentes polaridades com alta capacidade antioxidante, devido a polaridade da mistura de solventes.

Camargo et al. (2015) encontraram atividade antioxidante de 483,4  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss para a pele de amendoim pelo método de captura do radical ABTS, valor superior ao encontrados no presente trabalho (máximo de 148,31  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss). É válido ressaltar os diferentes parâmetros adotados pelo autor influenciaram significativamente aos valores de atividade antioxidante. Para a obtenção dos extratos, os autores realizaram uma etapa previa de retirada das frações lipofílicas (com hexano 1:5, p/v) da matéria prima, na sequência realizaram uma extração com uma mistura de acetona/água (70:30 v/v) à 30°C por 20 minutos, seguidos por cinco extrações com éter etílico/acetato de etila (1:1 v/v).

O extrato obtido através da extração com água subcrítica apresentou capacidade antioxidante superior (147,29  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss) a extração Soxhlet (40,28  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss) com o mesmo solvente (água). Nile et al. (2019) observaram um comportamento similar ao comparar extrações com água subcrítica e extrações a baixas pressões para a obtenção de extratos com alta capacidade antioxidante de *Withania somnifera* L. (ou cereja de inverno). Extrações com maceração (36,84%), Soxhlet (40,33%) e extração assistida por micro-ondas (55,67%) apresentaram atividade antioxidante determinada pelo método do radical ABTS (%) relativamente menores a extração com água subcrítica a 160°C e 10 MPa por 20 min (78,98%).

Usualmente, altas temperaturas aliadas a altas pressões causam um impacto positivo na atividade antioxidante, devido a mudanças nas propriedades da água (decréscimo da constante dielétrica, diminuição da viscosidade e tensão superficial), aumentando assim a transferência de massa na fase sólida da matéria prima (VLADIĆ et al., 2017). Adicionalmente, o aumento da atividade antioxidante de extratos aquosos



obtidos a altas temperaturas podem estar relacionados, em partes, à reação de oxirredução de compostos presentes na matéria prima, como a formação de melanoidinas, pela reação de maillard entre aminoácidos e açúcares redutores (VERGARA-SALINAS et al., 2012).

### 3.4.2.3 MÉTODO DE REDUÇÃO DO ÍON FÉRRICO - FRAP

Além dos métodos de redução do radical DPPH e ABTS, também foi utilizado o método de redução do íon férrico (FRAP). Os resultados referentes ao método FRAP estão apresentados na Tabela 12 e seus resultados expressos em  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  extrato e  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  sólido seco.

Tabela 12 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim (*Arachis hypogea* L.) avaliada pelo método de redução do íon férrico - FRAP.

Extratos	Parâmetros de extração	<sup>5,6</sup> FRAP ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ext)	<sup>5,6</sup> FRAP ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ ss)
SOX1	<sup>1</sup> Hex	4,43 <sup>e</sup> ± 0,05	1,81 <sup>f</sup> ± 0,02
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	108,24 <sup>c</sup> ± 4,11	41,52 <sup>b</sup> ± 1,58
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	97,36 <sup>c</sup> ± 0,92	20,76 <sup>d</sup> ± 0,20
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	300,05 <sup>a</sup> ± 9,64	42,20 <sup>b</sup> ± 1,36
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	1,39 <sup>e</sup> ± 0,17	0,40 <sup>f</sup> ± 0,05
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	1,10 <sup>e</sup> ± 0,03	0,25 <sup>f</sup> ± 0,01
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80 °C	44,17 <sup>d</sup> ± 2,65	14,28 <sup>c</sup> ± 0,86
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	185,16 <sup>b</sup> ± 2,58	34,16 <sup>c</sup> ± 0,48
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	305,53 <sup>a</sup> ± 14,05	124,94 <sup>a</sup> ± 5,75

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão <sup>6</sup>Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p>0,05) para o Teste de Tukey; ext: extrato; ss: sólido seco.

Fonte: Autor

Pela análise dos resultados obtidos para a atividade antioxidante referente a redução do íon férrico (FRAP) pela Tabela 12 é possível observar uma tendência entre todos os métodos antioxidantes, em que os extratos obtidos com etanol/água (70:30 v/v) e água, como solventes, apresentaram resultados promissores para atividade antioxidante dos extratos do subproduto do processamento do amendoim. Particularmente nas análises antioxidantes do método FRAP, o extrato SOX2 (41,52  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss) apresentou maior atividade antioxidante em relação aos extratos SOX3 (20,76  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss) e PLE2 (34,16  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss). Em contrapartida, os extratos SOX1, SFE1 e SFE2 apresentaram as menores atividades antioxidantes, 1,81, 0,40 e 0,25  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss, respectivamente, estando em consonância ao observado nos métodos já abordados (DPPH e ABTS).

Munekata, et al. (2016) avaliaram o poder antioxidante de extratos da pele de amendoim obtidos por ultrassom (15 minutos) seguido de centrifugação, filtração e remoção do solvente com uma mistura de etanol/água (80:20 v/v) a 60 °C pelo método FRAP para possíveis incorporação em hambúrgueres de ovelha visando o prolongamento da vida de prateleira dos mesmos. Os autores obtiveram um resultado de 26,6  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss, resultado próximo ao encontrado com extração Soxhlet e inferior ao obtido por extração com líquido pressurizado. A incorporação desses extratos em hambúrgueres de ovelha se mostrou promissor, com propriedades superiores ao antioxidante sintético BHT, apresentando atividades antimicrobianas e antioxidantes (oxidação lipídica e proteica), tendo como consequência o aumento da vida de prateleira do produto.

Nitidamente, extrações realizadas com água subcrítica apresentaram valores discrepantes, quando comparados com os outros extratos. Como já citado, os maiores valores de capacidade antioxidante da extração da água subcrítica podem ser justificados devido à ocorrência de reações (reações de maillard, caramelização e termoxidação) à alta temperatura de extração (160 °C) e à formação de novos compostos antioxidantes (NKURUNZIZA et al., 2019).

Shem-Tov et al. (2012) avaliaram a relação entre a atividade antioxidante pelo método de redução do radical FRAP e a cor da pele do amendoim de 22 linhagens. Os extratos foram obtidos por maceração (3 dias) com acetona/água (50:50 v/v) e os valores variaram de 1,3 a 52  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  de pele de amendoim. Extratos do cultivar tipo *Runner* (o mesmo avaliado no presente trabalho) apresentaram valores de 32  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  de matéria prima, valor superior ao obtido no presente trabalho para SOX3 (20,757  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss) e inferior ao PLE2 (34,157  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  ss). Os autores concluíram que a atividade antioxidante está diretamente relacionada ao teor de compostos fenólicos e flavonoides, esses por sua vez correlacionados com a composição do solo de cultivo.

#### 3.4.2.4 MÉTODO DE DESCOLORAÇÃO DO SISTEMA $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

Os valores de atividade antioxidante (AA%) dos extratos obtidos do subproduto do processamento do amendoim pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico (após 120 minutos de reação) estão apresentados na Tabela 13. O composto sintético BHT foi utilizado para comparação dos resultados.

Tabela 13 - Potencial antioxidante dos extratos do subproduto do amendoim (*Arachis hypogea* L.) avaliada pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

Extratos	Parâmetros de extração	<sup>4,5</sup> AA (%)
SOX1	<sup>1</sup> Hex	25,18 <sup>f</sup> ± 5,72
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	59,20 <sup>b,c</sup> ± 2,35
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	39,95 <sup>e</sup> ± 0,99
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	66,98 <sup>a,b</sup> ± 0,01
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	15,75 <sup>g</sup> ± 1,02
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	20,26 <sup>f,g</sup> ± 0,86
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80 °C	44,49 <sup>d,e</sup> ± 1,02
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	66,71 <sup>a,b</sup> ± 1,52
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	52,50 <sup>c,d</sup> ± 3,25
BHT	-	76,03 <sup>a</sup> ± 0,77

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão <sup>6</sup>Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p>0,05) para o Teste de Tukey; ext: extrato; ss: sólido seco.

Fonte: Autor

A atividade antioxidante dos extratos variou entre valores de 15,75 a 66,98%, sendo o maior valor obtido por extração Soxhlet com água como solvente, valor estatisticamente igual ao obtido com líquido pressurizado utilizando a mistura etanol/água (70:30 v/v) como solvente (66,71 %). Braga et al. (2016) encontraram valores próximos (55,12%) ao presente trabalho ao extrair compostos fenólicos da pele de amendoim por ultrassom com uma mistura de etanol/água (80:20 v/v). Através da Tabela 13 é possível observar que as atividades antioxidantes dos extratos SOX4 e PLE2 são estatisticamente iguais ao antioxidante sintético BHT (composto lipofílico). Esse fato sugere que os extratos do subproduto do processamento do amendoim podem atuar como composto antioxidante em emulsões (água-óleo), substituindo outros antioxidantes sintéticos.

Comparativamente as extrações Soxhlet apresentaram maiores valores de atividade antioxidante em relação aos métodos a alta pressões para o presente método, com exceção do extrato PLE2 (66,71%), o qual se apresentou estatisticamente maior ao extrato SOX3 (39,95%), ambos obtidos com uma mistura de etanol/água (70:30 v/v) como solvente.

Em geral, os extratos obtidos por extração Soxhlet (com hexano, SOX1) e extração supercrítica (SFE1 e SFE2) apresentaram baixa atividade antioxidante, tal fato pode ser explicado pela característica apolar do solvente, ao qual não favorece a solubilização de compostos fenólicos (polaridade intermediária a alta), sendo seus

extratos pobres nesses compostos, o que pode explicar o baixo potencial antioxidante desses extratos. Comportamento similar foi averiguado por Mazzutti et al. (2018) ao avaliar o potencial antioxidante pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico de extratos oriundos da casca grãos de cacau, onde os extratos obtidos por extrações supercrítica (variando parâmetros de pressão e temperatura) apresentaram baixa capacidade antioxidante (variando de 15 a 26%) em comparação aos extratos obtidos por extração com etanol pressurizado (49%).

Christman et al. (2018) avaliaram uma rota para incorporação de extratos da pele do amendoim encapsulados pela técnica de *spray dryer* (com maltodextrina, 10,5% p/p) em revestimentos doces para cobertura de amendoim (50/35/15 sucrose, mel e água destilada p/p/p). Os extratos foram obtidos por maceração dinâmica com uma mistura de etanol/água (70:30 v/v). Ensaio de capacidade antioxidante pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico evidenciaram que os extratos puros de pele de amendoim apresentaram potencial de capacidade antioxidante de 68,65%, valor próximo ao encontrado no presente trabalho para o método PLE com etanol/água 70:30 (v/v). Adicionalmente os amendoins revestidos pelos extratos encapsulados resultaram em um aumento significativo de atividade antioxidante (de 2,57 para 35,62%) comparado ao controle (amendoins revestidos com a cobertura sem o extrato). Por fim, ensaios sensoriais comprovaram que a adição dos extratos encapsulados na concentração de 12,8% (p/p) não influenciaram as características sensoriais do produto, sendo assim, extratos da pele de amendoim (um subproduto subestimado), surge como uma alternativa viável a outros compostos antioxidantes sintéticos, enriquecendo o conceito de biorrefinaria e a incorporação do mesmo em uma economia circular na indústria de processamento do amendoim.

### 3.4.3 COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DE PEARSON (r)

O coeficiente de correlação de Pearson é usado para expressar a força entre duas variáveis contínuas que são relacionadas umas com a outra. Nesse sentido, o coeficiente de correlação de Pearson (r) foi aplicado como forma de identificação de correlação entre a quantificação do teor de compostos fenólicos totais (mg GAE g<sup>-1</sup> ss) e os valores de capacidade antioxidante para os métodos DPPH, ABTS, FRAP ( $\mu$ mol TE g<sup>-1</sup> ss) e  $\beta$ -caroteno (%AA). Os valores de correlação entre o CFT e os métodos de capacidade antioxidante são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros de capacidade antioxidante e o teor de fenólicos totais.

	TPC (mg GAE g <sup>-1</sup> ss)
	r
DPPH (μmol TE g <sup>-1</sup> ss)	0,897
ABTS (μmol TE g <sup>-1</sup> ss)	0,830
FRAP (μmol TE g <sup>-1</sup> ss)	0,838
β-caroteno (%)	0,879

Todas as correlações foram estatisticamente significativas a 5%.

Fonte: Autor

De acordo com a Tabela 14, verificou-se altos valores de coeficiente de correlação de Pearson entre os valores de capacidade antioxidante para todos os métodos, sendo o método de captura do radical DPPH o método com maior correlação (0,897). A magnitude desses valores indica uma forte correlação entre essas variáveis. Resultados semelhantes foram observados por More (2021) ao encontrar correlações positivas entre o teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, determinada pelo método de captura do radical ABTS (0,788) em extratos obtidos por ultrassom da casca de romã.

Forte correlação também foi encontrado entre o teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante pelo método de descoloração do sistema β-caroteno/ácido linoleico (0,879), esse resultado corrobora com o encontrado por Dias et al. (2019) para extratos obtidos por extração supercrítica e por ultrassom da semente de umbu (*Spondias tuberosa*) ao relacionar os mesmos ensaios (0,967).

Em relação a extratos obtidos através da pele de amendoim (*Arachis hypogea* L.), Nepote et al. (2005) otimizaram a extração de compostos fenólicos alterando parâmetros como, a % etanol, tamanho de partícula, diferente razões de solvente/pele de amendoim (v/p) e tempo de extração e métodos de extrações convencionais (maceração e maceração dinâmica). Os ensaios apresentaram uma forte correlação (0,78) entre a capacidade antioxidante (% de inibição), a quantidade de compostos fenólicos.

De fato, alguns extratos obtidos por métodos não convencionais de extração também mostraram forte correlação entre a capacidade antioxidante e o teor de compostos fenólicos totais, dentre eles pode-se citar, extratos de flores de *Tilia* L., obtidos por extração com CO<sub>2</sub> supercrítico com 10% de etanol como cossolvente (PIECZYKOLAN et al., 2019), extratos da casca de maracujá (*Passiflora eduli* sp.) por extração com misturas de etanol/água pressurizadas (VIGANÓ et al., 2016) e extratos de *Orostachys*

*japonicus* (planta também conhecida como pinheiro manso) obtidas por extração com água subcrítica (KO et al., 2020). As correlações altamente significativas obtidas no presente trabalho suportam a hipótese de que os compostos fenólicos contribuem significativamente para a capacidade antioxidante total dos extratos obtidos.

### 3.4.4 INIBIÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

#### 3.4.4.1 AVALIAÇÃO *in vitro* DA INIBIÇÃO DAS ENZIMAS $\alpha$ -AMILASE SALIVAR HUMANA E PANCREÁTICA SUÍNA

A atividade de inibição de  $\alpha$ -amilase salivar humana e pancreática suína foi avaliada e os resultados de  $IC_{50}$  ( $mg\ mL^{-1}$ ) estão apresentados na Tabela 15. Em relação a enzima de  $\alpha$ -amilase pancreática suína, observou-se menores valores de  $IC_{50}$  para os extratos de polaridade média SOX2 (etanol 100%), PLE2 (etanol/água 70:30 v/v) com valores de  $1,58\ mg\ mL^{-1}$  e  $1,52\ mg\ mL^{-1}$ , e para o extrato apolar SFE1 ( $1,65\ mg\ mL^{-1}$ ), não diferindo estatisticamente os seus valores entre si. Em contrapartida, os extratos PLE1, SFE2 e SOX3 apresentaram os maiores valores de  $IC_{50}$  sendo,  $4,80\ mg\ mL^{-1}$ ,  $3,21\ mg\ mL^{-1}$  e  $2,92\ mg\ mL^{-1}$ .

É válido observar os valores obtidos com o mesmo solvente em diferentes técnicas de extração, por exemplo, o extrato obtido com uma mistura etanol/água (70:30 v/v) pressurizado, PLE2, apresentou  $IC_{50}$  menor em relação ao obtido na extração convencional Soxhlet com o mesmo solvente, SOX3. Esse resultado comprova a melhor seletividade dos compostos (obtidos a altas pressões) que apresentam atividade inibitória para as enzimas em questão. Resultado semelhante foi observado por Hsieh-Lo et al. (2020) ao avaliar a inibição da  $\alpha$ -amilase pancreática suína de extratos ricos em antocianinas da casca de feijão preto obtidos por métodos convencionais (maceração dinâmica) e não convencionais (SFE e PLE). Os autores justificam os menores valores de  $IC_{50}$  nas técnicas não convencionais devido as altas pressões alcançadas nessas técnicas, aumentando a seletividade e a recuperação de um maior perfil de compostos fenólicos.

Em relação a inibição da enzima  $\alpha$ -amilase salivar humana observou-se um menor valor de  $IC_{50}$  para os extratos SOX3 e PLE2 ( $0,74$  e  $0,95\ mg\ mL^{-1}$ ), ambos com a utilização do mesmo solvente. De fato, os resultados não apresentaram diferenças significativas entre si, enquanto na extração Soxhlet (não convencional) o tempo de extração é de 6 horas, na extração com líquido pressurizado é de apenas 40 minutos, levando a um menor consumo de solvente e energia de processo, justificando a extração

com líquido pressurizado como o melhor método de extração de compostos inibitórios de enzimas hidrolizantes.

Pela análise da Tabela 15, também é possível observar que a extração com água subcrítica apresentou inibição da enzima  $\alpha$ -amilase salivar humana, enquanto o seu respectivo método de extração convencional (SOX4) não apresentou inibição. Como já dito anteriormente, altas pressões e elevadas temperaturas aumentam a seletividade dos processos de extração não convencionais. O longo período de extração pode ter ocasionado a degradação dos compostos responsáveis pela inibição da enzima (procianidinas e proantocianidinas), ou então esses compostos podem não ter sido extraídos pelo método a baixa pressão, devido ao seu baixo grau de seletividade (NILE et al., 2018). Um estudo desenvolvido por Dhanani et al. (2017) mostra que há grande variação e significativas diferenças na composição de extratos obtidos por diferentes técnicas de extração, como água subcrítica e extração Soxhlet.

Tabela 15 - Valores de concentração de extratos para a inibição de 50% da atividade das  $\alpha$ -amilases ( $IC_{50}$ ,  $mg mL^{-1}$ ).

Extratos	Parâmetros de extração	$^{5,6}\alpha$ -amilase	$^{5,6}\alpha$ -amilase
		pancreática	salivar
		$IC_{50}$ [ $mg mL^{-1}$ ]	
SOX1	<sup>1</sup> Hex	2,11 <sup>b</sup> ± 0,02	1,13 <sup>d,e</sup> ± 0,03
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	1,58 <sup>d</sup> ± 0,87	1,67 <sup>b,c</sup> ± 0,34
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	2,92 <sup>c</sup> ± 0,24	0,74 <sup>c</sup> ± 0,37
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	-	-
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	1,65 <sup>d</sup> ± 0,12	2,38 <sup>a</sup> ± 0,33
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	3,21 <sup>c</sup> ± 0,17	1,82 <sup>b</sup> ± 0,27
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80 °C	4,80 <sup>a</sup> ± 0,16	1,30 <sup>c,d</sup> ± 0,87
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	1,52 <sup>d</sup> ± 0,06	0,95 <sup>d,e</sup> ± 0,89
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	-	1,66 <sup>b,c</sup> ± 0,16

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão <sup>6</sup>Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para o Teste de Tukey

Fonte: Autor

A inibição das enzimas  $\alpha$ -amilases é um dos alvos terapêuticos utilizados para retardar a digestão de oligossacarídeos em monossacarídeos, absorvíveis no intestino delgado, resultando na redução da hiperglicemia pós-prandial, como abordado anteriormente. Compostos fenólicos, como ácidos fenólicos e flavonoides são compostos presentes no reino vegetal aos quais podem se ligar covalentemente a  $\alpha$ -amilase, alterando sua atividade, devido a capacidade de formação de quinonas ou lactonas que reagem com

grupos nucleofílicos das enzimas (OYEDEMI et al., 2017). Especificamente, para flavonoides, a existência de hidroxilas nas posições 5, 6 e 7 do anel A e na posição 4' do anel B são capazes de aumentar a capacidade inibitória desempenham um papel importante na formação de ligações de hidrogênio com o sítio ativo da enzima (DAI et al., 2018).

Para melhor entender e avaliar as interações entre os polifenóis e as enzimas hidrolisantes estudos recentes têm utilizado o *docking* molecular, esse método computadorizado prevê a melhor orientação entre duas moléculas (nesse caso os polifenóis e o sítio ativo da enzima  $\alpha$ -amilase) a fim de formar um complexo molecular por meio de ligações covalentes, incluindo forças hidrofóbicas e ligações de hidrogênio (CAO et al., 2020), método não abordado no presente trabalho, porém de extrema importância para a compreensão dos estudos *in vitro*. Peng et al. (2019) utilizaram essa ferramenta para melhor entender e comprovar os resultados obtidos para inibição da  $\alpha$ -amilase ( $IC_{50}$  123,4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de extratos ricos em antocianinas (cianidina-3-O-soforosídeo e cianidina-3-O-sambubiosídeo) oriundos de pele de amendoim.

Um estudo conduzido por Tamura et al. (2015) evidenciou a atividade inibitória de moléculas de procianidinas A1 (extraídas da pele de amendoim, utilizando água como solvente) sobre  $\alpha$ -amilase, sendo seu poder de inibição proporcional ao grau de polimerização dessas moléculas. Adicionalmente, os mesmos autores evidenciaram a atividade de diferentes polifenóis (também identificados em extratos oriundos da pele do amendoim), por exemplo, epicatequina- (2 $\beta$   $\rightarrow$  O  $\rightarrow$  7, 4 $\beta$   $\rightarrow$  8) - [catequina- (6  $\rightarrow$  4 $\beta$ )] – epicatequina inibem fortemente a enzima maltase, enquanto epicatequina- (4 $\beta$   $\rightarrow$  8) - epicatequina- (2 $\beta$   $\rightarrow$  O  $\rightarrow$  7, 4 $\beta$   $\rightarrow$  8) - catequina atuam fortemente na inibição da atividade de maltases, evidenciando o poder inibitório desses polifenóis na degradação de açúcares.

Fernandes et al. (2020) identificaram os compostos fenólicos presente em extrato da pele do amendoim (obtidos por maceração dinâmica a temperatura ambiente utilizando etanol como solvente) e avaliaram seu potencial (94,38%) frente a enzima  $\alpha$ -amilase pancreática suína. Os compostos majoritários encontrados nos extratos foram catequina, ácido gálico, procianidina B2 e trans resveratrol, sendo catequina o composto com maior concentração nos extratos.



Um dos fatores que influenciam na concentração de extrato inibitório de enzimas se diz respeito a purificação dos mesmos. Um estudo conduzido por Teixeira et al. (2021) avaliaram o poder de inibição de  $\alpha$ -amilase por extratos ricos em antocianinas obtidos por líquido pressurizado da casca de feijão preto. Os autores avaliaram a concentração inibitória de extratos bruto e purificado frente a enzima  $\alpha$ -amilase, encontrando um valor de concentração ( $IC_{50}$ ) 4,5 vezes menor nos extratos purificados. No presente trabalho não foi realizada a purificação dos extratos, porém é válido sugerir a diminuição da concentração inibitória ( $IC_{50}$ ) desses extratos frente a enzimas hidrolisantes, indicando o elevado potencial dos extratos do subproduto do processamento do amendoim frente a essas enzimas.

#### 3.4.4.2 ANÁLISE *in vitro* DA INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

Na Tabela 16 estão disponíveis os valores de concentrações responsáveis por reduzir 50% da atividade da enzima acetilcolinesterase.

Tabela 16 - Valores de concentração de extratos para a inibição de 50% da atividade da Acetilcolinesterase ( $IC_{50}$ ,  $mg mL^{-1}$ ).

Extratos	Parâmetros de extração	<sup>5</sup> Acetilcolinesterase
		$IC_{50}$ [ $mg mL^{-1}$ ]
SOX1	<sup>1</sup> Hex	> 5
SOX2	<sup>2</sup> EtOH	> 5
SOX3	<sup>2</sup> EtOH/ <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v)	> 5
SOX4	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O	> 5
SFE1	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 40 °C	> 5
SFE2	<sup>4</sup> CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	> 5
PLE1	<sup>2</sup> EtOH, 10 MPa, 80 °C	> 5
PLE2	<sup>2</sup> EtOH: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O (70:30 v/v), 10 MPa, 80 °C	3,54 ± 0,01
SWE1	<sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, 10 MPa, 160 °C	> 5

<sup>1</sup>Hex: Hexano; <sup>2</sup>EtOH: Etanol; <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O: Água; <sup>4</sup>CO<sub>2</sub>: Gás carbônico; <sup>5</sup>resultados expressos como média ± desvio padrão

Fonte: Autor

Pela análise da Tabela 16, é possível observar que os extratos SOX1, SOX2, SOX3, SOX4, SFE1, SFE2, PLE1 e SWE1 não inibiram a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) quando comparado com o controle. Sendo a concentração capaz de inibir 50% da atividade da AChE ( $IC_{50}$ ) maior que 5  $mg mL^{-1}$  (concentração máxima testada). Já a amostra PLE2 inibiu a atividade da AChE, com  $IC_{50}$  igual a 3,54

mg mL<sup>-1</sup>. Tal fato pode estar relacionado com a extração de um composto específico (ou uma classe de compostos) de caráter polar (polaridade média), sendo ele extraído apenas com líquido pressurizado, utilizando uma mistura de etanol/água (70:30 v/v) a 80 °C e 10 MPa.

De acordo com Jabir et al. (2018), nas últimas três décadas diversos compostos fenólicos derivados de subprodutos agroindustriais e plantas têm sido estudados como fontes inibidoras de enzimas, análogo a inibição das enzimas hidrolisantes ( $\alpha$ -amilase) acredita-se que as hidroxilas presentes nesses compostos se ligam com os aminoácidos das enzimas através de ligações fortes (como pontes de hidrogênio e ligação  $\pi$ - $\pi$ ). Dentre os compostos estudados, que estão presentes na subproduto do processamento do amendoim (formado majoritariamente pela pele de amendoim) pode-se citar quercetina (ADEMOSUN et al., 2016; NILE et al., 2018; PENDOTA et al.; 2013), resveratrol (SCHMATZ et al., 2009; YANG et al., 2017) e proantocianidinas (MOYO et al., 2010; NEAGU et al., 2015).

Na literatura não há relatos de trabalhos focados na avaliação da inibição enzimática da acetilcolinesterase frente a extratos oriundos de subprodutos do amendoim. Morzelle et al. (2019) avaliaram a inibição da enzima acetilcolinesterase de extratos oriundos da casca de romã (maceração dinâmica, 80% etanol), os quais apresentaram IC<sub>50</sub> (2,48 mg mL<sup>-1</sup>) próximo ao encontrado no presente trabalho (3,54 mg mL<sup>-1</sup>). Adicionalmente, os compostos fenólicos foram identificados e quantificados por HPLC e apresentaram semelhança aos extratos da pele de amendoim, sendo epicatequina, rutina, ácido ferúlico os compostos majoritários. Yu et al. (2005, 2006) identificaram os compostos fenólicos presentes em extratos obtidos da pele de amendoim por HPLC e verificaram uma variedade de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos (ácido caféico e ácido ferúlico) e flavonoides (epicatequina). De fato, é válido a hipótese de que esses compostos foram extraídos do subproduto do processamento do amendoim no presente trabalho e que juntamente com outros também identificados na pele de amendoim (como proantocianidinas e resveratrol) foram os responsáveis pela inativação da enzima acetilcolinesterase.

Além dos compostos citados acima, foram relatados na literatura a capacidade de outros compostos (também presentes na pele de amendoim) frente a essa enzima. Khan et al. (2009) avaliaram a atividade inibitória de

acetilcolinesterase e butirilcolinesterase do composto quercetina, isolado de *Calluna vulgaris* L. por maceração utilizando etanol como solvente de extração. Os estudos *in vitro* resultaram em um IC<sub>50</sub> de 353,86 µmol L<sup>-1</sup> para a enzima acetilcolinesterase e 420,76 µmol L<sup>-1</sup> para a enzima butirilcolinesterase. Esse composto também foi identificado e quantificado (0,6 µg g<sup>-1</sup> de pele) por Chukwumah et al. (2012) em pele de amendoim do tipo *Runner*. Outros compostos com alta capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase, foram quantificados pelo autor, como resveratrol (1,1 µg g<sup>-1</sup> de pele) e rutina (16,2 µg g<sup>-1</sup> de pele).

A extração com a mistura etanol/água (70:30 v/v) se mostrou eficaz na extração de compostos com atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase. A composição e a concentração dos compostos no extrato PLE2 influenciaram positivamente na atividade de inibição enzimática (acetilcolinesterase). Assim, é possível que esses compostos (quercetina, rutina, resveratrol, epicatequina, proantocianidinas entre outros) estejam presentes no extrato e que possuem a capacidade de se ligar fortemente aos sítios ativos dessa enzima, por ligações de hidrogênio, ligação π-π entre outras, essas ligações podem aumentar a disponibilidade da acetilcolina na fenda sináptica e contribuir para a transmissão do impulso nervoso e o funcionamento adequado do sistema colinérgico (KATALINIĆ et al., 2010; LOIZZO et al., 2010; MORZELLE et al., 2019).

É válido ressaltar, assim como exposto na seção 3.4.4.1 que a purificação dos extratos pode influenciar diretamente nos valores de inibição enzimática (IC<sub>50</sub>). Um estudo conduzido por Błaszczaka et al. (2020) avaliou extratos brutos e purificados de diversas variedades de tomates (Maliniak, Black Prince, Lima e Cereja), obtidos por maceração dinâmica, com uma mistura de metanol/água (67:33 v/v) como solvente, e purificados com coluna XAD-16 (20-60 mesh). Dentre os compostos encontrados no tomate que também estão presentes na pele de amendoim pode-se citar ácido caféico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico e rutina. Dentre todas as variedades, a variedade de tomate, a Maliniak apresentou maiores valores de IC<sub>50</sub>, sendo 180,15 mg mL<sup>-1</sup> para o extrato bruto e 5,83 mg mL<sup>-1</sup> para o extrato purificado. Usualmente, extratos brutos apresentam uma certa quantidade de açúcares, proteínas, ácidos orgânicos entre outros compostos (como abordado anteriormente) que podem se ligar a compostos fenólicos e inibir a sua atividade. De certo modo, extratos purificados são mais eficazes na inibição da enzima

acetilcolinesterase, no presente trabalho não foi realizada a purificação dos extratos, sendo assim, é válido ressaltar que existe a possibilidade dos outros extratos (que não apresentaram atividade de inibição enzimática) apresentem atividade inibitória caso purificados e também a diminuição do valor de IC<sub>50</sub> para o extrato PLE2.

#### 3.4.5 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

A técnica de cromatografia gasosa foi utilizada para a avaliação do perfil de ácidos graxos para os extratos apolares do subproduto do processamento do amendoim. Foram selecionados os extratos obtidos através da extração Soxhlet com hexano (SOX1) e SFE (SFE1 e SFE2). O perfil de ácidos graxos dos extratos selecionados se encontra na Tabela 17, e o cromatograma representativo para os três extratos pode ser observado na Figura 16, juntamente com o tempo de retenção de cada ácido graxo. Adicionalmente, é possível observar os ácidos graxos identificados e quantificados na literatura para o óleo extraído da semente de amendoim (*Arachis hypogea* L.) na Tabela 18.

O perfil cromatográfico (tempo de retenção dos picos e índice de similaridade em relação a biblioteca NIST 11) dos extratos apresenta concordância com os dados da literatura para o óleo de amendoim (NEGOITA et al., 2017; ZHANG, 2019) e para manteiga de amendoim (NEGOITA et al., 2018), conforme o Anexo V. Os ácidos graxos identificados nos extratos foram os ácidos palmítico, linoléico, oleico, esteárico, eicosenóico, araquídico, behênico e lignocérico. Esses ácidos também foram identificados em diversos trabalhos encontrados na literatura para o óleo de amendoim, conforme mostra a Tabela 18. É evidente que as extrações Soxhlet utilizando hexano como solvente e SFE recuperaram uma fração oleosa idêntica a composição do óleo de amendoim propriamente dita. Dentre os ácidos que se apresentaram em maior percentual, pode-se citar os ácidos palmítico, linoleico (ômega 6) e oleico (ômega 9). É possível observar pelas Tabela 17 e Tabela 18 que as concentrações desses dois ácidos diferiram dos dados da literatura. Esse efeito pode estar relacionado com a técnica de extração ou ao tempo de maturação das sementes. De acordo com Huang et al. (2020) o conteúdo e a composição dos ácidos graxos presentes em óleos tendem a se alterar quando submetidos a altas temperaturas de extração. Outros parâmetros podem afetar a

composição de ácidos graxos das sementes no amendoim e seus subprodutos, dentre eles as condições ambientais, genótipo e tipo de tratamento, especificamente, o processo de torra (RODRIGUES et al., 2011).

A composição dos extratos obtidos nos processos de extração a baixas e altas pressões se assemelharam entre si, sendo o extrato obtido por extração supercrítica a 50°C e 20 MPa (SFE2) com melhor composição em ácidos graxos insaturados, ácido linoleico (6,53%) e eicosenóico (1,76%). Adicionalmente, os resultados do ensaio de cromatografia gasosa indicam que o ácido palmítico, oleico e linoleico representa mais de 91,96% para o extrato SOX1, 88,43% para o extrato SFE1 e 91,41% para o extrato SFE2. Sendo o ácido palmítico o ácido graxo saturado em maior abundância (7,60, 8,69 e 7,65%, para SOX1, SFE1 e SFE2 respectivamente) e o ácido oleico (ômega 9) o de maior composição entre os ácidos insaturados e também o de maior proporção dentre todos os ácidos graxos identificados (tanto em relação aos ácidos graxos saturados e insaturados), com valores de 77,97, 74,31 e 77,23% para os extratos SOX1, SFE1 e SFE2, respectivamente. A composição em ácidos oleico obtida no presente trabalho é consistente com o valor encontrado para a pele de amendoim da variedade *Spanish* no trabalho de Muñoz-Arrieta et al. (2021), com um valor de 79,40 mg g<sup>-1</sup> óleo.

Inicialmente, durante o crescimento das sementes de amendoim são produzidos os ácidos palmítico e linoleico e uma fração baixa de ácido oleico. Com a maturação das sementes, as enzimas convertem o ácido oleico em linoleico, sendo assim, a quantidade de ácido linoleico está diretamente relacionado com o tempo de colheita, diferindo entre as regiões produtoras, justificando assim os valores divergentes encontrados no presente trabalho em relação a literatura (DEAN et al., 2020).

A razão entre os ácidos poli-insaturado/saturados é um parâmetro importante para determinar a qualidade das frações lipídicas dos produtos alimentícios, um valor maior que 0,45 (valor encontrado no presente trabalho) é recomendado para a prevenção de doenças cardiovasculares, em contrapartida, extratos ricos em óleos com uma razão menor que 0,45 induz ao aumento de colesterol no sangue, sendo prejudicial à saúde (WOŁOSZYN et al., 2020). Ji et al. (2020) afirmam que a ingestão de alimentos fortificados com óleos vegetais com uma razão de ácidos poli-insaturado/saturados maior que 0,45 pode trazer

benefícios para a saúde, reduzindo a pressão arterial, o colesterol e a lipoproteína de baixa densidade (*Low density lipoprotein*, LDL).

Tabela 17 - Ácidos Graxos identificados e quantificados por CG-MS do subproduto oriundo do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.).

	Ácido Palmítico*	Ácido Linoleico*	Ácido Oleico*	Ácido Esteárico*	Ácido Eicosenóico*	Ácido Araquídico*	Ácido Behênico*	Ácido Lignocérico*
	C16:0	C18:2 (Ômega 6)	C18:1 (Ômega 9)	C18:0	C20:1	C20:0	C22:0	C24:0
SOX1	7,60	6,41	77,97	2,39	1,57	0,83	1,38	-
ESC1	8,69	5,43	74,31	4,07	1,31	0,87	2,05	0,85
ESC2	7,65	6,53	77,23	2,54	1,76	1,03	2,05	0,70

\*Resultados expressos em porcentagem (%)

Fonte: Autor

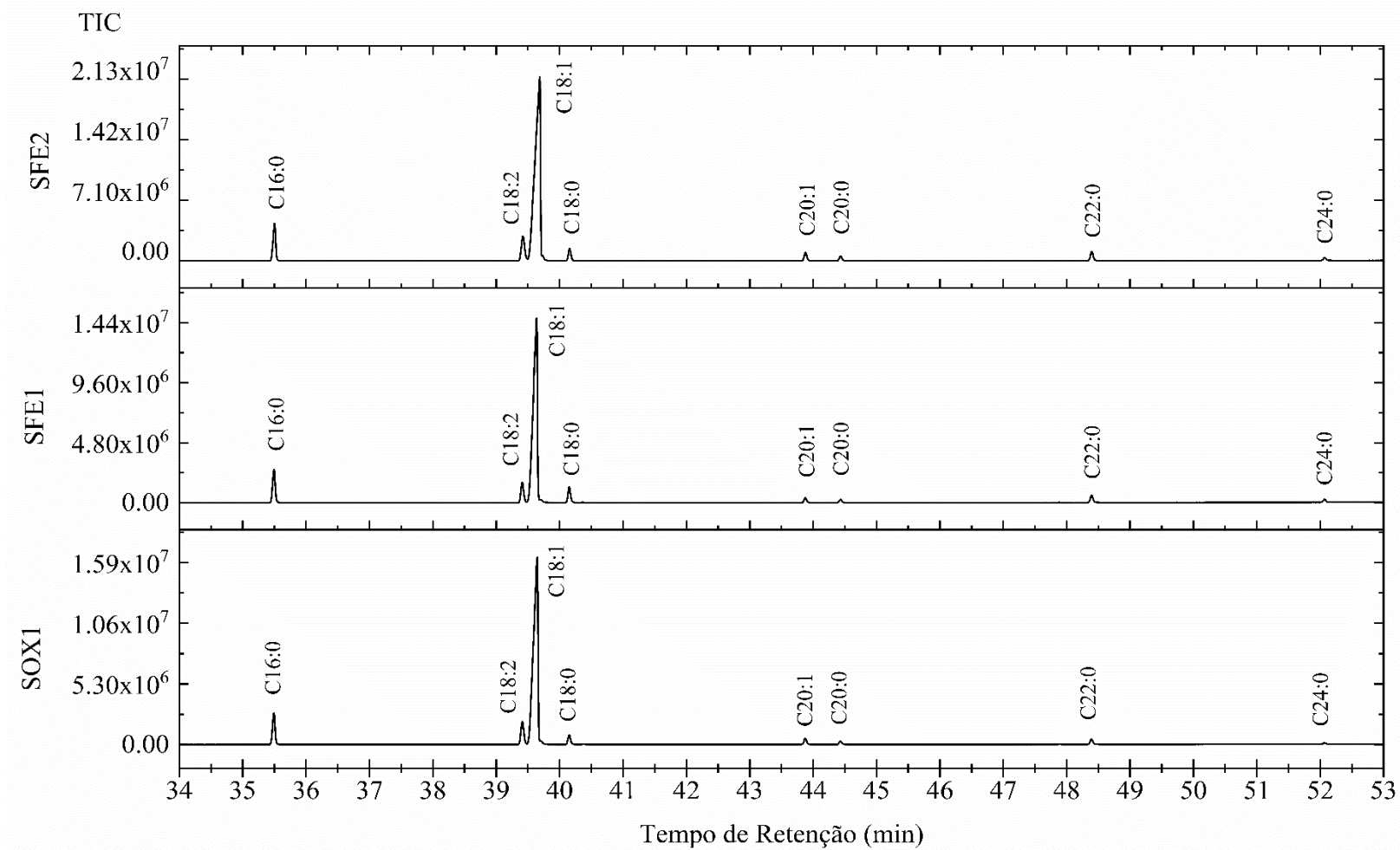
Tabela 18 - Ácidos Graxos identificados e quantificados na literatura para o óleo de amendoim (*Arachis hypogea* L.).

Ácido Palmítico*	Ácido Linoleico*	Ácido Oleico*	Ácido Esteárico*	Ácido Eicosenóico*	Ácido Araquídico*	Ácido Behênico*	Ácido Lignocérico*	Referência
C16:0	C18:2 (Ômega 6)	C18:1 (Ômega 9)	C18:0	C20:1	C20:0	C22:0	C24:0	
6,24	12,26	69,77	1,77	2,86	0,92	2,75	2,05	Campbell et al. (2017)
9,35	33,78	44,78	3,46	1,33	1,34	3,11	1,32	Ayyildiz et al. (2015)
9,37	23,69	55,33	3,73	-	1,83	3,25	1,62	Konuskan et al. (2019)
6,23	4,98	77,87	3,16	1,60	1,49	2,78	0,29	Wei et al. (2020)
5,31	2,85	44,78	1,46	1,09	0,87	0,73	0,41	Shin et al. (2010)

\*Resultados expressos em porcentagem (%)

Fonte: Adaptado de Ayyildiz et al. (2015); Campbell et al. (2017); Konuskan et al. (2019); Shin et al. (2010) e Wei et al. (2020)

Figura 16 - Cromatogramas representativos (CG-MS) dos extratos obtidos por Soxhlet utilizando hexano como solvente (SOX1) e extração supercrítica (SFE1 e SFE2).



Fonte: Autor



Estudos indicam que a ingestão de alimentos fortificados em ácido oleico gera inúmeros benefícios a saúde, dentre eles pode-se citar a redução de doenças cardiovasculares, sua ingestão provoca redução dos níveis de colesterol LDL e aumento do colesterol HDL. Diversos estudos tem abordado a suplementação de alimentos com esses ácidos mono e poli-insaturados, Rojas et al. (2019) fortificaram maionese utilizando óleo de chia, de semente de abóbora e semente de baru encapsulados em ácido esteárico, ricos em ômega 3, ômega 6 e ômega 9.

De forma geral, os teores de ácidos graxos dos extratos do subproduto do processamento do amendoim determinados neste trabalho apresentaram variações muito pequenas para os extratos obtidos por diferentes técnicas (á altas e baixas pressões). Além disso, os extratos obtidos por extração supercrítica possuem a mesma composição (levando em consideração o erro experimental) de ácido linoleico e oleico (ácidos benéficos para a saúde) do que extratos obtidos utilizando hexano (solvente tóxico), esse resultado torna ainda mais promissor a substituição de extrações que utilizam solventes orgânicos por uma tecnologia limpa de extração, como a extração supercrítica.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente capítulo objetivou avaliar o efeito de diferentes técnicas de extração (alternando os solventes e parâmetros de processos) frente ao rendimento de processo e qualidade dos extratos em termos de composição fenólica, potencial antioxidante e de inativação enzimática, além da composição em ácidos graxos, sendo notado que o uso do subproduto do processamento do amendoim é promissor como matéria prima para obtenção de diferentes extratos bioativos com inúmeras qualidades.

No que diz respeito à comparação do método SFE e SOX (utilizando hexano como solvente), os extratos obtidos a altas pressões apresentaram menor rendimento, porém a qualidade destes extratos se mostrou estatisticamente eficiente em comparação à extração Soxhlet. A quantificação de compostos fenólicos totais não apresentou diferença significativa em comparação aos métodos SOX e SFE, porém a extração Soxhlet com hexano se mostrou mais eficiente na extração de compostos com maior potencial antioxidante. Em relação à atividade de inibição enzimática, os resultados obtidos pelas técnicas SFE e SOX se mostraram estatisticamente iguais (frente as enzimas  $\alpha$ -amilase). Por fim, o perfil químico entre as técnicas não diferenciaram entre si, sendo seus extratos ricos em ácidos graxos insaturados ( $\omega$ 6 e  $\omega$ 9). É válido ressaltar que as extrações SFE levaram aproximadamente 270 minutos não necessitando de etapas de remoção do solvente, enquanto a extração SOX o tempo de extração foi de 360 minutos. Além disso, foi necessário a remoção do hexano, aumentando assim o custo do processo.

Comparando os métodos PLE e Soxhlet com os mesmos solventes de polaridade média (etanol e etanol/água 70:30 v/v) observamos que a extração com etanol (SOX2) apresentou maior rendimento, com amostra com maior teor de fenólicos e capacidade antioxidante. Em contrapartida, o extrato obtido por PLE apresentou menor valor de IC<sub>50</sub> para a inibição da enzima  $\alpha$ -amilase salivar. Apesar dos extratos etanólicos apresentarem ótimo rendimento (em ambas as técnicas), as extrações realizadas com a mistura etanol/água (70:30 v/v) apresentaram melhor qualidade quanto ao teor de compostos fenólicos, potencial antioxidante e atividade de inibição enzimática ( $\alpha$ -amilase salivar, pancreática e acetilcolinesterase).

Por fim, o extrato obtido com SWE apresentou melhor rendimento e alta qualidade (altos valores de compostos fenólicos e atividade antioxidante) quando comparados com SOX4 (com água). A amostra SOX4 não apresentou inibição enzimática, enquanto a amostra SWE apresentou atividade de inibição para a enzima  $\alpha$ -amilase salivar. Diante

de tal fato, estudos devem ser realizados para averiguar a natureza dos compostos recuperados ao utilizar a água (como solvente de extração) a altas pressões e temperaturas.

Os resultados obtidos no presente capítulo indicam a possibilidade da obtenção de diferentes frações do subproduto do processamento do amendoim com a utilização de diferentes solventes e métodos de extração. Das técnicas empregadas foram obtidos altos rendimentos e amostras com alta capacidade antioxidante e alta capacidade de inibição de enzimas hidrolisantes ( $\alpha$ -amilase salivar e pancreática) responsáveis pelo desenvolvimento de diabetes *Mellitus*, além disso o extrato obtido com PLE utilizando uma mistura etanol/água 70:30 v/v apresentou capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase, principal enzima precursora do Alzheimer. Sendo assim, o subproduto do processamento do amendoim pode representar uma fonte valiosa de diferentes compostos naturais com diversas aplicações alimentícias e farmacêuticas.

Por fim, verifica-se que a técnica de extração supercrítica está diretamente relacionada com a extração de compostos de baixa polaridade (como ácidos graxos insaturados) e as técnicas de extração com líquidos pressurizados para a obtenção de compostos de maior polaridade e com alta capacidade antioxidante (como polifenóis). Desta forma, a integração desses métodos de extração permite a obtenção de diversos produtos a partir do subproduto do processamento do amendoim, podendo eles ser reutilizados em indústrias alimentícias e farmacêuticas, e contribuindo assim com uma economia circular de valorização em indústrias de processamento de amendoim.

## **CAPÍTULO IV**

### **INTEGRAÇÃO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO A ALTAS PRESSÕES**

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, indústrias de alimentos estão cada vez mais levando em consideração os descartes oriundos do processamento de alimentos. A geração de resíduos contribui para problemas ambientais e sociais, como mudanças climáticas, desigualdade social e econômica, tornando-se assim uma preocupação global. Para solucionar ou diminuir esse problema, novas políticas sustentáveis com o uso de tecnologias verdes estão sendo implementadas nas indústrias. Nesse contexto, os resíduos ou subprodutos podem ser utilizados como matéria prima para diversos processos podendo ser convertidos em vários produtos com alto valor agregado, por exemplo, biocombustíveis, produtos químicos, bioeletricidade, biomaterial, biofertilizantes, rações animais, compostos bioativos, entre outros. Com isso, o desenvolvimento de tecnologias verdes, com a utilização de solventes “verdes”, bem como a integração de processos estão cada vez mais em pauta nas áreas de engenharia. Uma ferramenta muito investigada atualmente é a integração de processos. Essa ferramenta pode auxiliar na exaustão parcial ou completa da matéria prima, aumentando assim a eficiência de processo e também na recuperação de diferentes frações de uma mesma matéria prima e consequentemente auxiliando na aprimoração de um processo mais sustentável. Estratégias de biorrefinaria com uma abordagem de processos integrados pode levar ao desenvolvimento da bioeconomia circular (DAHIYA et al., 2018).

O amendoim é uma semente amplamente conhecida no mundo, o seu processamento gera resíduos industriais como a casca, pele e torta de amendoim (oriunda da produção de óleo). Sua produção mundial vem aumentando a cada ano, e com isso há uma grande produção de resíduo industrial. Conforme avaliado no capítulo anterior, o subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.), percebe-se uma grande oportunidade da utilização dessa matéria prima em processos inovadores de extração, como extração supercrítica, com líquido pressurizado e com água subcrítica para obtenção de diversas frações diferentes entre si e com alto valor agregado (tendo elas distintas características bioativas). Para uma maior exaustão da matéria prima é válido a aplicação de diferentes métodos de extração, com solventes de diferentes polaridades. Por exemplo, com extrações supercrítica, utilizando CO<sub>2</sub> como solvente é possível a recuperação de compostos com características apolares, dentre eles ácidos graxos insaturados (como visto no capítulo anterior). Já extrações com líquidos pressurizados, como etanol, água e a mistura destes, é possível a recuperação de compostos polares, com atividade antioxidante e com capacidade de inibição enzimática. Assim, a integração

desses processos é importante para uma maior eficiência e conseqüentemente a valorização da matéria prima. Além disso, os processos de extração integrados podem melhorar a qualidade de extratos polares obtidos com líquidos pressurizados (uma vez que a matéria prima se encontra desengordurada) e por conseqüência melhoram a qualidade das extrações com água subcrítica. Esses processos integrados se enquadram em sistemas de biorrefinaria, embora existam grandes desafios técnicos e econômicos que devem ser estudados para a aplicação em grande escala.

Por fim, o presente capítulo teve como finalidade a extração sequencial, a altas pressões, visando melhorar o aproveitamento do resíduo do processamento de amendoim, seguindo um conceito de biorrefinaria.

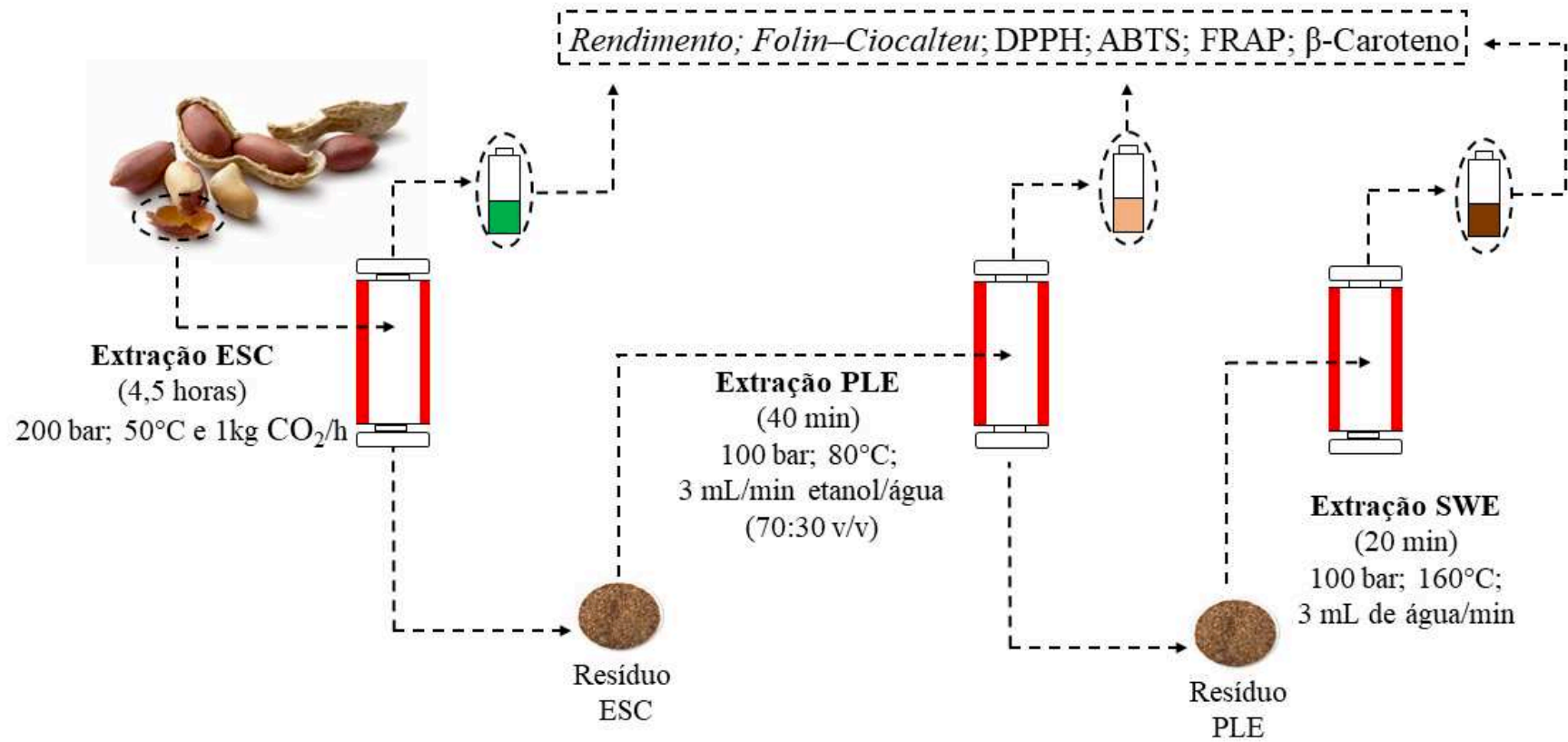
## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Nesta seção serão descritos os métodos utilizados para a extração com processos integrados, assim como as metodologias aplicadas para a avaliação da qualidade dos extratos quanto ao teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante. Um resumo gráfico desse capítulo é apresentado na Figura 17.

Para a integração dos processos de extração foram priorizadas as extrações de menor temperatura, a fim de evitar a degradação dos compostos termossensíveis. Dessa forma adotou-se a seguinte seqüência: SFE (50 °C) seguido por PLE (80 °C) e SWE (160 °C).

Os ensaios de extração foram realizados no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC) e os ensaios de teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Figura 17 - Resumo gráfico das metodologias aplicadas no Capítulo IV.



Fonte: Autor

## 2.1 PREPARO DA MATÉRIA PRIMA

O resíduo do processamento do amendoim, composto majoritariamente pela pele do amendoim, foi cedido pela empresa *Many – Indústria e Comercio de Doces Ltda – EPP* localizada na cidade de Itajaí – Santa Catarina. A matéria prima foi separada e acondicionada em sacos de polietileno e armazenada em congelador doméstico à -18 °C (Brastemp, Freezer 250, Modelo BVS25ABBNA) no LATESC/UFSC.

## 2.2 EXTRAÇÕES SEQUENCIAIS

### 2.2.1 EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA (EXTRAÇÃO 1)

Para os ensaios de SFE utilizou-se o método dinâmico de extração. A unidade de extração utilizada e o procedimento experimental de extração estão descritos no item 2.4.1 do Capítulo III deste trabalho, respectivamente. O rendimento de extração foi determinado conforme descrito no 2.4.1.2 do Capítulo III através da razão entre a massa de extrato obtido e a massa de matéria prima utilizada na extração. Nessa seção não houve uma nova extração supercrítica, utilizou-se os resultados obtidos no Capítulo III, utilizando-se apenas o resíduo da extração.

O presente método de extração teve como objetivo a recuperação da fração apolar presente na matéria prima (fração que pode atuar como uma barreira na extração de compostos fenólicos). A seleção dos parâmetros de extração teve como pressuposto a melhor qualidade quanto à recuperação de ácidos graxos insaturados (apresentado no Capítulo III), podendo essa fração ser reutilizada na indústria de processamento alimentar como uma fonte de ácidos graxos insaturados, por exemplo, enriquecimento de produtos à base de óleos, como maionese (ROJAS et al., 2019). Assim, considerando os resultados do Capítulo III a condição SFE2 (20 MPa e 50 °C) proporcionou um maior rendimento em ácidos graxos insaturados (ácido linoleico, oleico e eicosenoico). Sendo assim, escolheu-se como a primeira etapa do processo a extração realizada por SFE a 20 MPa, 50 °C e vazão de 1kg de CO<sub>2</sub> min<sup>-1</sup> por 270 minutos, seguindo o procedimento descrito no Capítulo III. Para a discussão dos resultados utilizou-se os resultados apresentados no Capítulo III, entre eles o rendimento de extração ( $X_0$ ), análises de compostos fenólicos totais (CFT), capacidade antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP, descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ ácido linoleico), de inibição enzimática ( $\alpha$ -amilase e acetilcolinesterase) e composição de ácidos graxos (CG-MS), o resíduo obtido da extração SFE2 (no Capítulo III) foi empregado como matéria prima no processo subsequente de PLE.



### 2.2.2 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (EXTRAÇÃO 2)

O método dinâmico de extração foi utilizado para os experimentos com líquido pressurizado. A unidade de extração, bem como o procedimento experimental de extração utilizados são descritos na seção 2.4.2.1 do Capítulo III deste trabalho.

Os parâmetros de extração selecionados para as extrações com líquido pressurizado levaram em consideração os resultados dos ensaios realizados no Capítulo III. A amostra PLE obtida com etanol/água apresentou maior teor de fenólicos totais, capacidade antioxidante e potencial para inibição enzimática. Além disto, esta amostra foi a única que apresentou resultado positivo para inibir a atividade da enzima acetilcolinesterase. Com isso, as condições de extração foram fixadas em 10 MPa, 80 °C, 3 mL min<sup>-1</sup> e utilizando a mistura de etanol/água (70:30 v/v) por 40 minutos. Foram utilizadas 5 g de amostra (resíduo da extração 1) para o preenchimento do leito de extração, o restante do leito foi preenchido com 30 mL de esfera de vidro. Os ensaios foram realizados em duplicata e os extratos foram submetidos à remoção do solvente em rotaevaporador (Fisaton Modelo 802, São Paulo/SP – Brasil) para a remoção do etanol, seguido de liofilização (L101, Liotop, São Carlos, Brasil) para a retirada da água. O rendimento de extração foi determinado conforme descrito na seção 2.4.2.3 do Capítulo III por meio da razão entre a massa de extrato obtido e a massa de matéria prima utilizada na extração. Os extratos obtidos após a remoção do solvente foram empregados para as análises de compostos fenólicos totais (CFT), capacidade antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP, descoloração do sistema β-caroteno/ácido linoleico), e o resíduo obtido na extração aplicado como matéria prima para o processo de extração com água subcrítica.

### 2.2.3 EXTRAÇÃO COM ÁGUA SUBCRÍTICA (EXTRAÇÃO 3)

O método dinâmico de extração também foi utilizado para os experimentos de extração com água subcrítica. A unidade de extração, bem como o procedimento experimental de extração utilizados são descritos na seção 2.4.2.3 do Capítulo III deste trabalho. Os parâmetros utilizados no Capítulo III (seção 2.4.2.3) com exceção do tempo de extração foram utilizados nessa parte do trabalho. As extrações foram realizadas em duplicata a 10 MPa, 160 °C e 3 mL min<sup>-1</sup> de água (previamente submetida a ultrassom e filtração). Com o objetivo de diminuir o consumo de energia e solvente utilizado no Capítulo III foi selecionado um tempo menor de extração (20 minutos), de acordo com a experiência do grupo de pesquisa (MAZZUTTI et al., 2018; RODRIGUES et al., 2020). Análogo a PLE, foram utilizados 5 g de amostra (resíduo da extração 2) para o

preenchimento do leito de extração, o restante do leito foi preenchido com 30 mL de esfera de vidro. Após o processo de extração os extratos foram liofilizados para a extração completa da água (L101, Liotop, São Carlos, Brasil). Os extratos obtidos após a remoção do solvente foram empregados para as análises de compostos fenólicos totais (CFT), capacidade antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP, descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico). O rendimento de extração foi determinado conforme descrito no 2.4.1.2 do Capítulo III através da razão entre a massa de extrato obtido e a massa de matéria prima utilizada na extração.

## 2.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS EXTRATOS

Os extratos obtidos nas extrações sequenciais foram avaliados em termos do teor de compostos fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante (captura do radical DPPH, poder de redução do íon férrico -FRAP, método do radical ABTS e descoloração do  $\beta$ -caroteno). As análises do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante foram realizadas no LATESC em parceria com o Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB).

### 2.3.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT)

A determinação do conteúdo de compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu e encontra-se descrita na seção 2.5.1 do Capítulo III deste trabalho. Todos os extratos obtidos pelas extrações sequencias foram avaliados. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em miligramas de ácido gálico equivalente por grama de extrato ( $\text{mg GAE g ext}^{-1}$ ).

### 2.3.2 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

O potencial antioxidante *in vitro* dos extratos do subproduto do processamento do amendoim obtidos nas extrações sequenciais foram avaliados por quatro técnicas distintas, método de captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil), método de redução do radical ABTS - cátion 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), Método de redução do íon férrico (FRAP) e método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico.

O método do radical DPPH encontra-se descrito na seção 2.5.2 do Capítulo III, presente nesse trabalho. O percentual de redução do radical DPPH foi obtido pela

Equação 12 (Capítulo III) para cada extrato e em triplicata, os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  extrato.

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS+ ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6- sulfônico), utilizou-se a metodologia descrita por Re et al. (1999), conforme a seção 2.5.3 (Capítulo III). O percentual de redução do radical ABTS<sup>+</sup> foi obtido pela Equação 12 (também presente no Capítulo III) para cada extrato e em triplicata, os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  extrato.

A identificação de compostos antioxidantes de íons férrico (FRAP) foi determinada através da metodologia descrita por Benzie e Strain (1996) e Herald et al. (2012), conforme descrito na seção 2.5.4 (Capítulo III). Os resultados foram expressos os resultados em  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  extrato.

O método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico encontra-se descrito na seção 2.5.5 do Capítulo III, deste trabalho. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados da atividade antioxidante (AA%) foram calculados pela Equação 13, apresentada neste mesmo item, e expressos com média  $\pm$  desvio padrão.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 PROCESSO INTEGRADO: ESC (EXTRAÇÃO 1)**

Dentre os parâmetros avaliados no Capítulo III para SFE a condição de 20 MPa e 50 °C (SFE2) foi a selecionada para o processo de extração integrado, o extrato obtido nesses parâmetros apresentaram um melhor perfil químico em relação aos ácidos graxos insaturados.

Na Tabela 19 são apresentados os valores de rendimento (%), teor de fenólicos totais (mg GAE  $\text{g}^{-1}$ extrato), atividade antioxidante ( $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  extrato e %), inibição enzimática (IC<sub>50</sub>) e teor de ácidos graxos (%) do extrato obtido a 20 MPa e 50 °C (SFE2) por extração supercrítica.

Tabela 19 – Rendimento ( $X_0$ ) teor de fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante e de inibição enzimática e perfil de ácidos graxos do extrato do subproduto do processamento do amendoim, obtido por extração supercrítica a 20 MPa e 50 °C.

ESC CO <sub>2</sub> , 20 MPa, 50 °C	
*Rendimento (%)	20,94 ± 1,45
*CFT (mg GAE g <sup>-1</sup> ext)	1,94 ± 0,03
*DPPH (μmol TE g <sup>-1</sup> ext)	2,84 ± 0,35
*ABTS (μmol TE g <sup>-1</sup> ext)	2,09 ± 0,03
*FRAP (μmol TE g <sup>-1</sup> ext)	1,10 ± 0,03
*β-caroteno (%AA)	20,26 ± 0,86
*α-amilase pancreática (IC <sub>50</sub> )	3,21 <sup>c</sup> ± 0,17
*α-amilase salivar (IC <sub>50</sub> )	1,82 <sup>b</sup> ± 0,27
Perfil de Ácidos Graxos (%)	
C16:0	7,65%
C18:2 (Ômega 6)	6,53%
C18:1 (Ômega 9)	77,23%
C18:0	2,54%
C20:2	1,76%
C20:0	1,03%
C22:0	2,05%
C24:0	0,70%

\*Resultados expressos como média ± desvio padrão

Fonte: Autor

O processo SFE apresentou rendimento de 20,94%, (Tabela 8 do Capítulo III, e Tabela 19) valor considerado alto em relação ao encontrado na literatura para a pele de amendoim com rendimento de 15,53% (PUTRA et al., 2018) a 30 MPa, 70 °C e com uso de 5% de etanol como co-solvente. Como dito anteriormente, os altos rendimentos obtidos por SFE pode ser justificado pela presença de pequenas partes (quebradas) da semente, pois representa um resíduo de processamento industrial, com pequenos fragmentos e pó de amendoim (Figura 22 f, Anexo III), com alto teor de matéria lipídica (ácidos graxos) sendo facilmente solubilizáveis em CO<sub>2</sub> supercrítico, o que conferiu para estes ensaios, os altos rendimentos.

Em relação ao conteúdo de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante (métodos de captura do radical DPPH, ABTS, redução do íon férrico, FRAP e descoloração do sistema β-caroteno/ácido linoleico), observa-se baixos valores de compostos fenólicos e atividade antioxidante, em relação as outras técnicas abordadas no Capítulo III, como PLE e SWE. Esse comportamento pode ser justificado pela baixa

afinidade do CO<sub>2</sub> com compostos antioxidantes, que na maioria das vezes são compostos polares. Além disto, o objetivo desta primeira etapa era exatamente separar a fração lipídica presente na amostra, rica em ácidos graxos de alto valor. Ou seja, provavelmente os ácidos graxos da amostra conferiram forte inibição frente a enzima  $\alpha$ -amilase salivar, auxiliando na prevenção de diabetes *Mellitus* (Tabela 19). Alguns estudos reportam que ácidos graxos insaturados apresentam atividade de inibição enzimática maior que ácidos graxos saturados.

Técnicas de extração que empregam fluidos supercríticos apresentam inúmeras vantagens quando comparadas às técnicas de extração convencionais, entre elas, as mais atraentes são, a seletividade e baixa geração de resíduos de solvente (muitas vezes tóxicos ao instrumentista). No entanto, deve-se levar em conta algumas desvantagens como o alto custo dos equipamentos e solubilidade dos compostos alvos. Para superar o problema da solubilidade alguns autores indicam a realização de extrações sequencias, nas quais diferentes técnicas de extração são aplicadas na mesma matéria prima, sendo o resíduo da primeira etapa de extração serve de matéria prima para a próxima etapa de extração, contribuindo para aumentar a eficiência do processo e também a redução dos danos ambientais, com a exaustão da matéria prima. Esse processo estimula a economia circular e o conceito de biorrefinaria de subprodutos agroalimentares (CALDEIRA ET AL., 2020; DIAS ET AL. 2019; HERRERO; IBAÑEZ, 2018; MAZZUTTI et al., 2018; RICO et al. 2020).

Tendo em vista os resultados obtidos na primeira extração do processo sequencial, observa-se que o extrato apresentou ótimo comportamento para a atividade de inibição enzimática ( $\alpha$ -amilase pancreática e salivar, Tabela 19) e um ótimo perfil de ácidos graxos (majoritariamente insaturados: ver Tabela 19), os quais podem trazer inúmeros benefícios para a saúde. Entretanto, baixo teor de fenólicos e de capacidade antioxidante evidenciam a importância de recuperar estes compostos que permaneceram na fase sólida. Sendo assim, o sólido residual após a etapa SFE foi submetido ao processo sequencial (Extração 2) com líquido pressurizado.

### 3.2 PROCESSO INTEGRADO: PLE (EXTRAÇÃO 2)

Na Tabela 21 são apresentados os resultados de rendimento, teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante (métodos DPPH, ABTS, FRAP e  $\beta$ -caroteno) para

extratos obtidos com PLE a 10 MPa, 80 °C e etanol/água (70:30 v/v) como solvente. Esse extrato foi obtido com a matéria prima desengordurada (após extração 1).

Na Figura 18 é relacionado o rendimento global de extração (a), teor de fenólicos totais (b) capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP (c) e pelo método de descoloração do  $\beta$ -caroteno comparando as amostras de PLE: (1) PLE – I: aplicado para o subproduto do processamento de amendoim com a matéria-prima integral (dados do capítulo III), com (2) PI (Processo Integrado) - PLE aplicado para o subproduto do processamento de amendoim desengordurado com SFE como pré-tratamento.

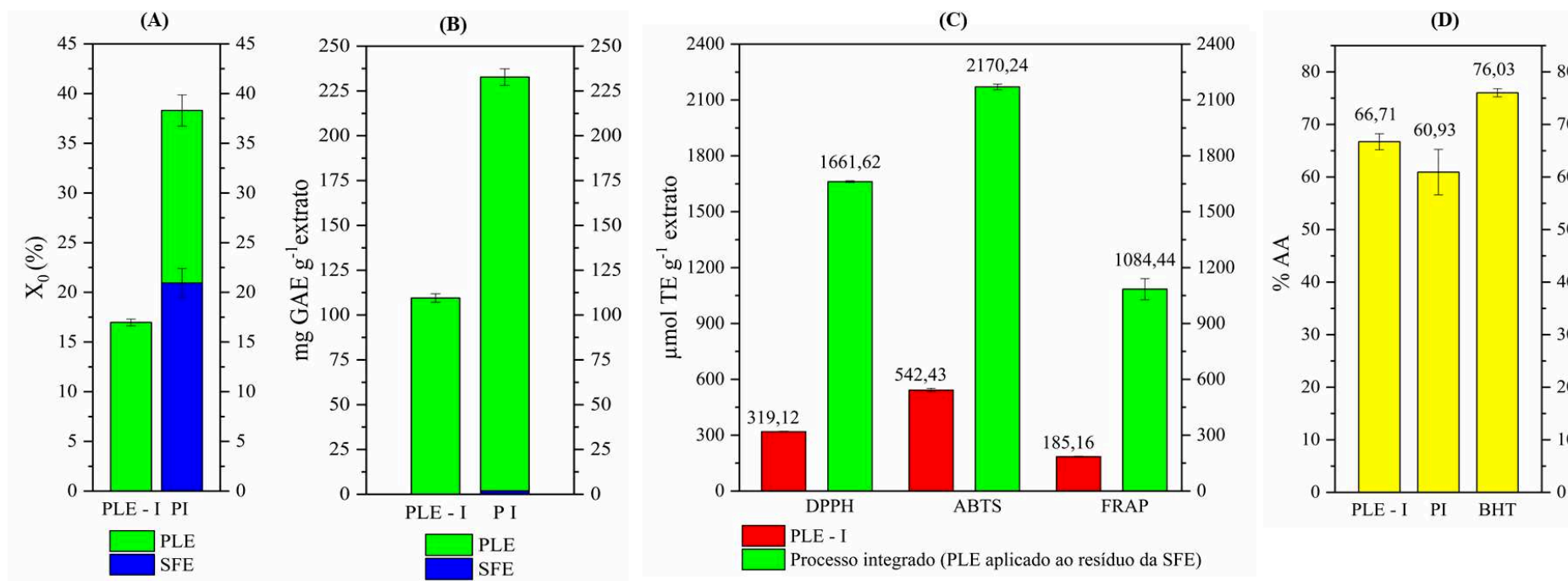
Tabela 20 – Rendimento ( $X_0$ ), teor de fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante do extrato do subproduto do processamento do amendoim, obtido no processo integrado por extração com etanol/água (70:30 v/v) pressurizado a 10 MPa e 80 °C.

<b>PLE Etanol/água (70:30 v/v) a 10 MPa e 80 °C</b>	
<b>*Rendimento (%)</b>	17,36 ± 1,57
<b>*CFT (mg GAE g<sup>-1</sup>ext)</b>	230,79 ± 4,59
<b>*DPPH (μmol TE g<sup>-1</sup>ext)</b>	1661,62 ± 15,36
<b>*ABTS (μmol TE g<sup>-1</sup>ext)</b>	2170,24 ± 15,42
<b>*FRAP (μmol TE g<sup>-1</sup>ext)</b>	1084,44 ± 56,55
<b>*β-caroteno (%AA)</b>	60,93 ± 4,33

\*Resultados expressos como média ± desvio padrão

Fonte: Autor

Figura 18 - Rendimento ( $X_0$ ) (a), teor de fenólicos totais (b), capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP (c) e  $\beta$ -caroteno (d) para PLE com etanol/água para processo não integrado a partir da matéria prima integral, (PLE – I) e para processo integrado, utilizando o resíduo da SFE, (PI), sendo: PLE - I: Extração PLE realizada com a matéria prima integral (sem o pré tratamento SFE); PI: Processo integrado (SFE + PLE aplicado ao resíduo da SFE) e BHT: antioxidante sintético (2,6-diterc-butil-p-creso)



Fonte: Autor

Como observado na Tabela 8 (Capítulo III) e na Tabela 20 (acima), o rendimento por PLE foi praticamente constante, comparando-se a amostra sem pré-tratamento com SFE (16,97%, Capítulo III) e com o processo integrado (SFE de pré-tratamento) (17,36%, Tabela 20). Como observado na Figura 18 (a) o rendimento global de extração para o processo não integrado (PNI) foi de 16,97%. É notável um aumento de rendimento de processo ao analisar as duas extrações sequenciais (SFE + PLE), obtendo um valor de 38,30% (20,94% + 17,36%), ou seja, com duas extrações sequenciais (SFE+PLE) é possível recuperar cerca de 38,30% da matéria prima, sendo essas constituídas por duas frações distintas (apolar: SFE e polar: PLE).

Pela análise da Figura 18 (b) observa-se ainda que o processo integrado permite a obtenção de uma fração de PLE com maior teor de fenólicos além de significativamente melhor capacidade antioxidante, comparado com o processo isolado. O extrato obtido no processo integrado apresentou valor de CFT de 230,79 mg GAE g<sup>-1</sup> extrato, aproximadamente o dobro do encontrado no extrato obtido com a matéria prima integral (109,52 mg GAE g<sup>-1</sup> extrato). Isso evidencia que a remoção da fração apolar (ácidos graxos, 20,94% da matéria prima, Tabela 8) pode ter impedido a recuperação de composto fenólicos, no processo não integrado (PLE realizado com a matéria prima integral, sem o pré tratamento), enquanto no processo integrado, o pré tratamento da matéria prima (SFE, remoção da fração apolar) auxiliou na recuperação desses compostos, tendo assim uma extração PLE mais eficiente na recuperação de compostos fenólicos.

O aumento teor de compostos fenólicos no processo integrado influenciou diretamente na atividade antioxidante do extrato obtido. Os valores de capacidade antioxidante, por todos os métodos avaliados, aumentaram significativamente (Figura 18 (c) e (d) e Tabela 20), do processo isolado (PLE-I) para o processo integrado (SFE+PLE), exceto no método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico, como mostra a Figura 18 (d). Como a atividade antioxidante por este método é muito útil na investigação de antioxidantes com características lipofílicas, é válida a hipótese de que a extração PLE do processo não integrado ter recuperado compostos antioxidantes de característica lipofílica, uma vez que nesse processo a matéria prima é rica em compostos apolares. Em contrapartida, no processo integrado a recuperação desses antioxidantes lipofílicos pode ter ocorrido na primeira etapa do processo integrado (SFE), estando “indisponíveis” para a recuperação na segunda etapa (PLE), levando a diminuição da capacidade antioxidante desses extratos.



Em relação ao método de captura do radical DPPH o valor encontrado no processo sequencial (1661,62  $\mu\text{mol TE g}^{-1}\text{extrato}$ ) foi de aproximadamente 5,2 vezes maior Figura 18 (c) em relação a extração com a matéria prima integral (319,12  $\mu\text{mol TE g}^{-1}\text{extrato}$ ).

Diversos autores também reportam aumento do teor de compostos fenólicos totais e conseqüentemente o aumento da atividade antioxidante dos seus extratos em extrações sequenciais de diversas matérias primas. Dentre eles, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Viganó et al. (2016) ao avaliar a extração sequencial de sementes de maracujá, empregando SFE seguido de PLE. Ferro et al. (2019) obtiveram resultado semelhante ao presente trabalho em extrações sequenciais utilizando guanxuma (*Sida rhombifolia*) como matéria prima, sendo que os autores observaram um aumento de 1,09 para 2,47 no valor de  $\text{IC}_{50}$  para o ensaio de DPPH, valores obtidos com a matéria prima integral e com a matéria prima submetida a um pré-tratamento com extração supercrítica, respectivamente. Bobinaité et al. (2020) também aplicaram um processo de extração sequencial, com êxito, em bagaço de romã, empregando SFE seguida de PLE, sendo que a fração SFE foi rica em carotenoides e a fração recuperada por PLE ricas em fenólicos com alta capacidade antioxidante.

De forma geral, o pré-tratamento da matéria prima favoreceu uma maior recuperação de compostos fenólicos com potentes atividades antioxidantes, demonstrando que para as condições estudadas, o uso de métodos de extração integrados pode melhorar as atividades biológicas dos extratos.

### 3.3 PROCESSO INTEGRADO: SWE (EXTRAÇÃO 3)

Na Tabela 21 são apresentados os resultados de rendimento, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante (pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP e  $\beta$ -caroteno) para o extrato obtido com na terceira extração sequencial, com SWE a 10 MPa e 160 °C. Esse extrato foi obtido a partir do resíduo após a ESC (matéria prima desengordurada) e após a PLE (matéria prima com remoção de parte da fração polar).

Na Figura 19 são apresentados o rendimento global de extração (a), teor de fenólicos totais (b), capacidade antioxidante, pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP (c) e pelo método de descoloração do  $\beta$ -caroteno (d) comparando as amostra de SWE: (1) SWE aplicado para o subproduto do processamento de amendoim como matéria-prima original (dados do Capítulo III), com (2) SWE aplicado para o subproduto do processamento de

amendoim desengordurado (após SFE) e sem parte da fração polar (após PLE), ou seja, do processo SWE isolado com a terceira etapa do processo integrado.

Tabela 21 – Rendimento ( $X_0$ ), teor de fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante do extrato do subproduto do processamento do amendoim, obtido no processo integrado por extração com água subcrítica a 10 MPa e 160 °C.

SWE água a 10 MPa e 160 °C	
*Rendimento (%)	34,45 ± 0,38
*CFT (mg GAE g <sup>-1</sup> ext)	56,96 ± 2,85
*DPPH (μmol TE g <sup>-1</sup> ext)	173,86 ± 2,00
*ABTS (μmol TE g <sup>-1</sup> ext)	432,65 ± 4,41
*FRAP (μmol TE g <sup>-1</sup> ext)	245,24 ± 9,34
*β-caroteno (%AA)	25,84 ± 3,59

\*Resultados expressos como média ± desvio padrão

Fonte: Autor

Pela análise da Tabela 21 é possível observar que mesmo sendo a terceira extração sequencial, o rendimento da extração foi elevado mesmo com a diminuição do tempo de extração para 20 minutos, em comparação com a extração do processo não sequencial, (34,45%), valor próximo ao encontrado no Capítulo III para a matéria prima integral (37,63%, Tabela 8 da Capítulo III). Pela análise da Figura 19 (a) é notório o elevado rendimento do processo integrado (SFE + PLE + SWE), com um valor de 72,75% (20,94% + 17,36% + 34,45%). Com a integração dos processos de alta pressão foi possível recuperar 72,75% da matéria prima, constituídas de três frações, uma apolar (ESC), uma com polaridade média (PLE) e uma com polaridade alta (SWE). Esse resultado comprova o conceito adotado para o presente trabalho, onde a integração dos três processos alcançou um elevado rendimento e conseqüentemente a exaustão parcial da matéria prima.

Para que o solvente (água) alcance o ponto subcrítico é preciso altas temperaturas de processo, usualmente na faixa de 100-250 °C (ESSIEN et al., 2020), no caso do presente trabalho devido as limitações do equipamento, foi utilizado uma temperatura de 160 °C. Temperaturas elevadas levam a diminuição da constante dielétrica da água, conforme, conforme pode ser visto na Tabela 2 (Capítulo I), aumentando sua capacidade de dissolver compostos. Além disso, a taxa de transferência de massa aumenta devido a redução da viscosidade e tensão superficial, justificando assim o alto rendimento. Os altos valores de rendimento também podem estar diretamente relacionados com a recuperação

de compostos orgânicos e inorgânicos, como proteínas, carboidratos e minerais, uma vez que esses compostos apresentam maior afinidade pela água (GALLEGO et al., 2019). Foi possível recuperar ainda compostos fenólicos, esse que por sua vez não foram recuperados na extração 2 (com líquido pressurizado). É válido levar em consideração a polaridade dos solventes utilizados nas extrações, parte dos compostos fenólicos (os que possuem maior polaridade e maior afinidade com a água) não foram recuperados na segunda extração, sendo eles recuperados na terceira.

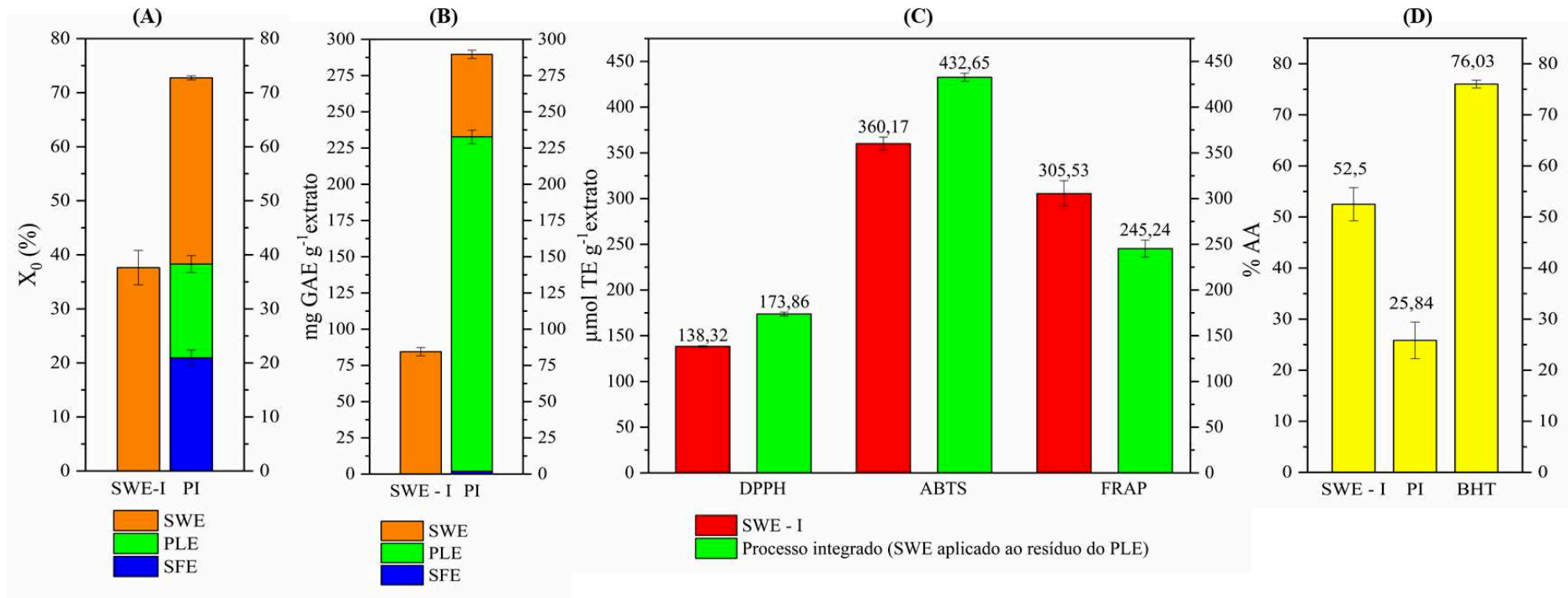
Quanto aos ensaios de capacidade antioxidante é possível observar pela Tabela 21 e Figura 19 (c) e (d) que os valores permaneceram próximos aos encontrados na extração com a matéria prima integral (Tabela 10, Tabela 11, Tabela 12 e Tabela 13, Capítulo III), sendo a atividade antioxidante determinada pelo método ABTS para o processo integrado o único ensaio que apresentou valores maiores que o extrato obtido com a matéria prima integral. Como visto no Capítulo III, os resultados de atividade antioxidante apresentaram alta correlação com os valores de compostos fenólicos totais. Com a maior recuperação de compostos fenólicos na segunda etapa de extração, e a diminuição do teor de fenólicos totais obtidos no terceiro extrato é válido a diminuição do valor de atividade antioxidante, uma vez que eles apresentam correlação positiva entre si, como observado no Capítulo III.

Atualmente, diversos trabalhos buscam alternativas aos métodos biotecnológicos para a recuperação de compostos de alto valor agregado, como açúcares e aminoácidos, a partir de biomassas agroindustriais. Nesse contexto, extração com água subcrítica surge como uma alternativa viável, econômica e amigável ao meio ambiente, para a recuperação desses compostos. Levando em consideração a composição da matéria prima utilizada para as extrações no presente trabalho, 12% de proteínas e 72% de carboidrato (YU et al., 2006), é válida a hipótese de que a extração com água subcrítica (última extração do processo integrado) utilizando o resíduo do PLE, tenha recuperado compostos como açúcares e aminoácidos (ou oligopeptídeos).

Em relação ao biorrefino do subproduto do processamento do amendoim, nenhum trabalho foi encontrado na literatura. Um processo de extração sequencial conceituada em um sistema de biorrefinaria foi aplicada com êxito em cascas de laranja por Lachos-perez et al. (2020). Os autores aplicaram dois processos de extração com água subcrítica visando a recuperação de flavonas (a 150 °C) na primeira extração e na sequência com o aumento da temperatura (acima de 200 °C) a hidrólise e recuperação de açúcares (glicose,

xilose, arabinose e frutose). A processo de extração foi consistente, permitindo a recuperação de hesperidina e narirutina (22,9 e 1,9 mg g<sup>-1</sup> de matéria prima, respectivamente) na primeira extração, já na segunda extração do processo sequencial os autores recuperaram valores de 7,14 % e 13,44 % de arabinose e glicose, respectivamente.

Figura 19 - Rendimento ( $X_0$ ) (a), teor de fenólicos totais (b), capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP (c) e  $\beta$ -caroteno (d) para SWE a partir da matéria prima integral (SWE - I) e para processo integrado (utilizando o resíduo do PLE, PI), sendo: SWE - I: Extração SWE realizada com a matéria prima integral (sem o pré tratamento SFE e PLE); PI: Processo integrado - SWE aplicado a matéria prima submetida as extrações (SFE + PLE) e BHT: antioxidante sintético (2,6-diterc-butil-p-creso)



Fonte: Autor

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este capítulo teve como finalidade avaliar a influência do processo integrado de ESC, PLE e SWE na obtenção de diferentes compostos do subproduto do processamento do amendoim. Em geral, o processo integrado (extrações sequenciais) se mostrou como uma alternativa de melhor aproveitamento da matéria prima, obtendo um rendimento total de 72,75% (ESC:34,45% + PLE:17,36% + SWE:20,94%).

O processo integrado, extração do subproduto do processamento do amendoim por extração supercrítica (extração 1), com posterior utilização do resíduo da extração 1 como matéria prima da extração com líquido pressurizado (extração 2) e por fim, utilização do resíduo da extração 2 como matéria prima da extração com água subcrítica (extração 3), proporcionou a obtenção de três produtos. O primeiro obtido por ESC, rico em composição de ácidos graxos insaturados (ômega 6: 6,53% e ômega 9: 77,23%) e com atividade de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase (com  $IC_{50}$  de 3,21 e 1,82 mg mL<sup>-1</sup> para a  $\alpha$ -pancreática e  $\alpha$ -salivar, respectivamente), sendo o segundo e o terceiro obtidos por PLE e SWE, respectivamente, ambos com excelente qualidade em compostos fenólicos (PLE: 230,79 mg GAE g<sup>-1</sup> extrato e SWE: 56,96 mg GAE g<sup>-1</sup> extrato) e potente atividade antioxidante.

Além da obtenção de extratos ricos em ácidos graxos insaturados, a primeira extração (ESC) atuou como um processo de pré tratamento da matéria prima, facilitando a extração de compostos fenólicos nas extrações subsequentes (PLE e SWE). Esse resultado pode ser facilmente observado nos maiores valores de atividade antioxidante quando comparados com o processo não integrado (sem o pré tratamento da matéria prima por extração supercrítica). Os resultados de atividade antioxidante variaram nos métodos avaliados (DPPH, FRAP e ABTS) entre 1084,44 e 2170,24  $\mu$ mol TE g<sup>-1</sup>extrato para extração com PLE e 173,86 e 432,65  $\mu$ mol TE g<sup>-1</sup>extrato para extração com SWE. Já pelo método de descoloração do sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico os extratos obtidos por PLE e SWE apresentaram valores inferiores ao processo não integrado, 60,93 e 25,84%.

A recuperação de compostos com utilização de processos integrados levou a uma maior variedade de produtos com diferentes características e possibilitou o aproveitamento máximo da matéria prima, destacando o potencial de aplicação de novas estratégias de extração e conseqüentemente uma abordagem de biorrefinaria da matéria prima e a economia circular na indústria de processamento de amendoim.



## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS**



## 1 CONCLUSÃO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo a obtenção de diferentes extratos obtidos por meio do emprego diferentes técnicas de extração (convencionais e verdes) e com aplicação de extrações a altas pressões integradas, visando a aplicação conceituada em biorrefinaria da matéria prima. Os resultados apresentados nos Capítulos III e IV demonstraram que o subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) pode ser utilizado como uma rica matéria prima para a obtenção de extratos bioativos com potenciais atividades antioxidante e de inibição enzimática ( $\alpha$ -amilase e acetilcolinesterase). Os diferentes métodos aplicados no presente trabalho para a obtenção dos extratos permitiram avaliar a influência de diferentes técnicas e parâmetros de extração frente ao rendimento, capacidade antioxidante, atividade de inibição enzimática e composição química.

Os extratos com maior rendimento global de extração ( $X_0$ ) foram os obtidos por Soxhlet com hexano (37,65%) e com água subcrítica a 10 MPa e 160 °C (37,63%). Os extratos obtidos por extração Soxhlet com etanol apresentaram valores estatisticamente semelhante a esses resultados (35,30%). Os extratos obtidos com extração supercrítica também apresentaram altos rendimentos de extração (26,11% a 40 °C e 10 MPa e 20,94% a 50 °C e 10 MPa).

Na avaliação dos compostos fenólicos totais os extratos obtidos com solventes de polaridade média a alta (etanol, etanol/água 70:30 v/v e água) apresentaram os maiores valores. Pode-se observar que os solventes de maior polaridade apresentaram maiores conteúdos de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Os extratos obtidos por tecnologia supercrítica e com extração Soxhlet utilizando o hexano como solvente apresentaram baixo potencial antioxidante e teor de compostos fenólicos, quando comparado com os outros métodos de extração.

Em função do grande potencial antioxidante dos extratos obtidos, um estudo relacionado à inibição da atividade de enzimas foi realizado. Foram avaliados a inibição da atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e acetilcolinesterase, sendo a primeira relacionada a diabetes *Mellitus* (causando elevados níveis de glicose no sangue, ocasionando obesidade) e a segunda relacionada com a doença de Alzheimer. Os extratos obtidos com a extração Soxhlet com etanol e etanol/água (70:30 v/v) foram os que apresentaram menor  $IC_{50}$ , para a enzima  $\alpha$ -amilase pancreática e salivar humana, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si, para ambas as enzimas. Os extratos obtidos com

extração supercrítica a 40 °C e 20 MPa apresentou baixo valor de IC<sub>50</sub> para a enzima sendo promissor na inibição da enzima  $\alpha$ -amilase pancreática. Em contrapartida o extrato também obtido por extração supercrítica a 50 °C e 20 MPa apresentou baixo valor de IC<sub>50</sub> para a enzima  $\alpha$ -amilase salivar, sendo ambos promissores na inibição das respectivas enzimas e conseqüentemente mostram potencial para contribuir para o tratamento de pacientes diabéticos. Em relação a enzima acetilcolinesterase o único extrato capaz de inibir a sua atividade foi o obtido com etanol/água (70:30 v/v) pressurizado (10 MPa), podendo auxiliar como fármaco natural na diminuição das complicações decorrentes da doença de Alzheimer.

A extração do subproduto do processamento do amendoim com CO<sub>2</sub> supercrítico (ESC) e hexano (Soxhlet) possibilitou a recuperação de extratos ricos em ácidos graxos insaturados, avaliados por cromatografia gasosa com detector MS (CG-MS). Sendo o ômega 9 e ômega 6 os de maior concentração. A extração supercrítica realizada a 50 °C possibilitou extratos mais ricos nesses compostos, em comparação ao extrato obtido com 40 °C e com Soxhlet (hexano).

Por fim, no Capítulo IV foi realizada a integração dos processos, dentro do conceito de biorrefinaria, e com o intuito de otimizar e maximizar a utilização da matéria prima, visando a sua exaustão. O processo se mostrou eficiente, na obtenção de diferentes frações da matéria prima. Ainda, o pré tratamento da matéria prima (extração da fração apolar por ESC) auxiliou na extração de compostos fenólicos nas extrações subsequentes, aumentando o teor de compostos fenólicos totais e conseqüentemente a capacidade antioxidante dos extratos obtidos por PLE (quando comparados com os extratos obtidos sem o pré tratamento).

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que o subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) é uma fonte valiosa de compostos bioativos. Em geral, o alto rendimento dos extratos aliados com diferentes potencias como atividades antioxidantes e de inibição enzimática podem ser obtidos por diferentes técnicas de extração como Soxhlet, PLE e SWE. Além disso, extratos com uma rica composição em ácidos graxos pode ser obtidos com ESC e Soxhlet (utilizando hexano como solvente). Esses extratos podem ser convertidos em produtos para possíveis aplicações industriais, como aditivo incorporado na formulação de alimentos funcionais, bem como na composição de um fármaco em virtude da presença dos compostos fenólicos com potencial antioxidante e de inibição enzimática atribuídos ao seletivo processo de

extração. Diante do exposto, denota-se a valorização total do subproduto industrial por meio de um processo de biorrefino, além de agregar valor por meio da aplicação de técnicas de baixo impacto ambiental, juntamente com contribuição da comunidade acadêmica e industrial no desenvolvimento de alternativas viáveis à recuperação de compostos bioativos de interesse, contribuindo para uma economia circular.

## **2 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS**

- Avaliar outras técnicas de pré-tratamento da matéria prima;
- Testar os extratos obtidos no processo integrado frente à inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase salivar e pancreática e acetilcolinesterase e comparar os resultados com os resultados obtidos com os extratos sem pré tratamento;
- Realizar a purificação dos extratos e avaliar a sua qualidade quanto ao teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e inibição enzimática e comparar os resultados com os resultados dos extratos brutos (não purificados);
- Realizar testes *in vivo* dos extratos com alto potencial antioxidante e de inibição enzimática;
- Avaliar a atividades antimicrobiana e anti-inflamatória dos extratos;
- Encapsular os extratos com potencias antioxidantes para futuras incorporações alimentares e farmacêuticas;
- Avaliar a citotoxicidade dos extratos obtidos;
- Analisar a viabilidade econômica do processo integrado;
- Identificar e quantificar os extratos polares por HPLC;
- Realizar testes de quantificação e identificação de açúcares, proteínas; minerais e fibras dos extratos obtidos por SWE.

## REFERÊNCIAS

- ADEMILUYI, A. O.; OBOH, G. Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 65, n. 3, p. 305–309, 2013.
- ADEMOSUN, A. O.; OBOH, G.; BELLO, F.; AYENI, P. O. Antioxidative Properties and Effect of Quercetin and Its Glycosylated Form (Rutin) on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Activities. **Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 21, n. 4, p. NP11–NP17, 2016.
- ADHIKARI, B.; DHUNGANA, S. K.; WAQAS ALI, M.; et al. Antioxidant activities, polyphenol, flavonoid, and amino acid contents in peanut shell. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, p. 2–7, 2018.
- AGATONOVIC-KUSTRIN, S.; KUSTRIN, E.; GEGECHKORI, V.; MORTON, D. W. Bioassay-guided identification of  $\alpha$ -amylase inhibitors in herbal extracts. **Journal of Chromatography A**, v. 1620, p. 460970, 2020.
- ALVES, J. DOS S.; CONFORTIN, T. C.; TODERO, I.; et al. Simultaneous extraction of oil and bioactive compounds from pecan nut using pressurized solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 153, 2019.
- AMINFAR, Z.; TOHIDFAR, M. In silico analysis of squalene synthase in Fabaceae family using bioinformatics tools. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 739–747, 2018.
- ANDRADE, K. S.; GONALVEZ, R. T.; MARASCHIN, M.; et al. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544–552, 2012.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. **Gaithersburg, Maryland: AOAC International**, 2005.
- AOAC. Official Methods of Analysis of the AOAC International. **AOAC**, v. 18 th ed., 2012.
- APPELDOORN, M. M.; SANDERS, M.; VINCKEN, J. P.; et al. Efficient isolation of major procyanidin A-type dimers from peanut skins and B-type dimers from grape seeds. **Food Chemistry**, v. 117, n. 4, p. 713–720, 2009.
- ARIAS, J.; MEJÍA, J.; CÓRDOBA, Y.; et al. Optimization of flavonoids extraction from *Lippia graveolens* and *Lippia organoides* chemotypes with ethanol-modified supercritical CO<sub>2</sub> after steam distillation. **Industrial Crops and Products**, v. 146, p. 112170, 2020.
- ARUMUGAM, N.; BIELY, P.; PUCHART, V.; SINGH, S.; PILLAI, S. Structure of peanut shell xylan and its conversion to oligosaccharides. **Process Biochemistry**, v. 72, p. 124–129, 2018.
- AYYILDIZ, H. F.; TOPKAFA, M.; KARA, H.; SHERAZI, S. T. H. Evaluation of Fatty Acid Composition, Tocols Profile, and Oxidative Stability of Some Fully Refined Edible Oils. **International Journal of Food Properties**, v. 18, n. 9, p. 2064–2076, 2015.

- AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.
- AZWANIDA, N. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 04, n. 03, p. 3–8, 2015.
- BANSODE, R. R.; RANDOLPH, P.; AHMEDNA, M.; et al. Bioavailability of polyphenols from peanut skin extract associated with plasma lipid lowering function. **Food Chemistry**, v. 148, p. 24–29, 2014.
- BARRETT, A.; NDOU, T.; HUGHEY, C. A.; et al. Inhibition of  $\alpha$ -amylase and glucoamylase by tannins extracted from cocoa, pomegranates, cranberries, and grapes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 7, p. 1477–1486, 2013.
- BASTIDAS-OYANEDEL, J. R.; SCHMIDT, J. E. Increasing profits in food waste biorefinery-a techno-economic analysis. **Energies**, v. 11, n. 6, 2018.
- BELYAEV, N. D.; KELLETT, K. A. B.; BECKETT, C.; et al. The transcriptionally active amyloid precursor protein (APP) intracellular domain is preferentially produced from the 695 isoform of APP in a  $\beta$ -secretase-dependent pathway. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 53, p. 41443–41454, 2010.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **ANALYTICAL BIOCHEMISTRY**, v. 239, p. 70–76, 1996.
- BHOWMICK, G.; SARMAH, A. K.; SEN, R. Zero-waste algal biorefinery for bioenergy and biochar: A green leap towards achieving energy and environmental sustainability. **Science of the Total Environment**, v. 650, p. 2467–2482, 2019.
- BŁASZCZAKA, W.; JEŻA, M.; SZWENGIELB, A. Polyphenols and inhibitory effects of crude and purified extracts from tomato varieties on the formation of advanced glycation end products and the activity of angiotensin-converting and acetylcholinesterase enzymes. **Food Chemistry**, v. 314, 2020.
- BOBINAITĖ, R.; KRAUJALIS, P.; TAMKUTĖ, L.; et al. Recovery of bioactive substances from rowanberry pomace by consecutive extraction with supercritical carbon dioxide and pressurized solvents. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 85, p. 152–160, 2020.
- BODOIRA, R.; ROSSI, Y.; MONTENEGRO, M.; MAESTRI, D.; VELEZ, A. Extraction of antioxidant polyphenolic compounds from peanut skin using water-ethanol at high pressure and temperature conditions. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 57–65, 2017.
- BODOIRA, R.; VELEZ, A.; MAESTRI, D.; HERRERA, J. Bioactive Compounds Obtained from Oilseed By-Products with Subcritical Fluids: Effects on *Fusarium verticillioides* Growth. **Waste and Biomass Valorization**, 2019.
- BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS, D. R. DE. **Antioxidantes: princípios e métodos analíticos**. 1º ed. Curitiba: Appris, 2015.
- BOTTAMEDI, M.; VINÍCIUS, M.; NASCIMENTO, S.; et al. Antioxidant and anti-inflammatory action (in vivo and in vitro) from the trunk barks of *Cabreúva* (*Myrcarpus frondosus* Allemão, Fabaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, p. 113545, 2020.

- BRAGA, G. C.; MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; et al. Extraction yield, antioxidant activity and phenolics from grape, mango and peanut agro-industrial by-products. **Ciência Rural**, v. 46, n. 8, p. 1498–1504, 2016.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.
- CALDEIRA, C.; DE LAURENTIIS, V.; CORRADO, S.; VAN HOLSTEIJN, F.; SALA, S. Quantification of food waste per product group along the food supply chain in the European Union: a mass flow analysis. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 149, n. August 2018, p. 479–488, 2019.
- CALDEIRA, C.; VLYSIDIS, A.; FIORE, G.; et al. Sustainability of food waste biorefinery: A review on valorisation pathways, techno-economic constraints, and environmental assessment. **Bioresource Technology**, v. 312, p. 123575, 2020.
- CALOMENI, A. V.; DE SOUZA, V. B.; TULINI, F. L.; et al. Characterization of antioxidant and antimicrobial properties of spray-dried extracts from peanut skins. **Food and Bioproducts Processing**, v. 105, p. 215–223, 2017.
- CAMARGO, A. C.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; GALLO, C. R.; SHAHIDI, F. Gamma-irradiation induced changes in microbiological status, phenolic profile and antioxidant activity of peanut skin. **Journal of Functional Foods**, v. 12, p. 129–143, 2015.
- CAMARGO, A. C.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; RASERA, G. B.; et al. Phenolic acids and flavonoids of peanut by-products: Antioxidant capacity and antimicrobial effects. **Food Chemistry**, v. 237, p. 538–544, 2017.
- CAMPBELL, M. L. H.; HAMPSHIRE, D.; HAMSTEAD, L. E.; et al. The effects of intrauterine infusion of peanut oil on endometrial health, salivary cortisol and interovulatory period in mares. **Theriogenology**, v. 102, p. 116–125, 2017.
- CAÑADAS, R.; GONZÁLEZ-MIQUEL, M.; GONZÁLEZ, E. J.; DÍAZ, I.; RODRÍGUEZ, M. Overview of neoteric solvents as extractants in food industry: A focus on phenolic compounds separation from liquid streams. **Food Research International**, v. 136, p. 109558, 2020.
- CAO, J.; ZHANG, Y.; HAN, L.; et al. Number of galloyl moieties and molecular flexibility are both important in alpha-amylase inhibition by galloyl-based polyphenols. **Food and Function**, v. 11, n. 5, p. 3838–3850, 2020.
- CARDENAS-TORO, F. P.; ALCÁZAR-ALAY, S. C.; COUTINHO, J. P.; et al. Pressurized liquid extraction and low-pressure solvent extraction of carotenoids from pressed palm fiber: Experimental and economical evaluation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 90–100, 2015.
- CARR, A. G.; MAMMUCARI, R.; FOSTER, N. R. A review of subcritical water as a solvent and its utilisation for the processing of hydrophobic organic compounds. **Chemical Engineering Journal**, v. 172, n. 1, p. 1–17, 2011.
- CARRIZZO, A.; IZZO, C.; OLIVETI, M.; et al. The main determinants of diabetes mellitus vascular complications: Endothelial dysfunction and platelet hyperaggregation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 10, p. 1–19, 2018.
- CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.

- CHANG, A. S.; SREEDHARAN, A.; SCHNEIDER, K. R. Peanut and peanut products: A food safety perspective. **Food Control**, v. 32, p. 296–303, 2013.
- CHANG, M.; SUN, X.; GUO, X.; et al. Composition and antioxidant study of procyanidins from peanut skins. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 14, n. 5, p. 2781–2789, 2020.
- CHEMAT, F.; ABERT-VIAN, M.; FABIANO-TIXIER, A. S.; et al. Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 248–263, 2019.
- CHEN, L.; YAN, F.; CHEN, W.; et al. Procyanidin from peanut skin induces antiproliferative effect in human prostate carcinoma cells DU145. **Chemico-Biological Interactions**, v. 288, p. 12–23, 2018.
- CHEN, X.; LIANG, L.; HAN, C. Borate suppresses the scavenging activity of gallic acid and plant polyphenol extracts on DPPH radical: A potential interference to DPPH assay. **Lwt**, v. 131, p. 109769, 2020.
- CHERUBINI, F. The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 7, p. 1412–1421, 2010.
- CHRISTMAN, L. M.; DEAN, L. L.; BUENO ALMEIDA, C.; WEISSBURG, J. R. Acceptability of Peanut Skins as a Natural Antioxidant in Flavored Coated Peanuts. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 10, p. 2571–2577, 2018.
- CHUKWUMAH, Y.; WALKER, L.; VOGLER, B.; VERGHESE, M. Profiling of bioactive compounds in cultivars of Runner and Valencia peanut market-types using liquid chromatography/APCI mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 132, n. 1, p. 525–531, 2012.
- COMIM, S. R. R.; MADELLA, K.; OLIVEIRA, J. V.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction from dried banana peel ( *Musa spp.*, genomic group AAB ): Extraction yield, mathematical modeling, economical analysis and phase equilibria. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, n. 1, p. 30–37, 2010.
- CRUZ, P. N.; PEREIRA, T. C. S.; GUINDANI, C.; et al. Antioxidant and antibacterial potential of butia (*Butia catarinensis*) seed extracts obtained by supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 229–237, 2017.
- DAHIYA, S.; KUMAR, A. N.; SHANTHI SRAVAN, J.; et al. Food waste biorefinery: Sustainable strategy for circular bioeconomy. **Bioresource Technology**, v. 248, n. August 2017, p. 2–12, 2018.
- DAI, T.; CHEN, J.; LI, Q.; et al. Investigation the interaction between procyanidin dimer and  $\alpha$ -amylase: Spectroscopic analyses and molecular docking simulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 427–433, 2018.
- DATARKAR, S.; PAGIRE, B. V.; DAREKAR, A.; HILE, R. B. Regionwise Compound Growth Rates in Area, Production and Productivity of Kharif Groundnut in Maharashtra. **International Journal of Agriculture**, v. 33, p. 1101–1106, 2015.
- DEAN, L. L.; EICKHOLT, C. M.; LAFOUNTAIN, L. J.; HENDRIX, K. W. Effects of Maturity on the Development of Oleic Acid and Linoleic Acid in the Four Peanut Market Types. **Journal of Food Research**, v. 9, n. 4, p. 1, 2020.
- DEY, A.; BHATTACHARYA, R.; MUKHERJEE, A.; PANDEY, D. K. Natural products

against Alzheimer's disease: Pharmaco-therapeutics and biotechnological interventions. **Biotechnology Advances**, v. 35, n. 2, p. 178–216, 2017.

DHANANI, T.; SHAH, S.; GAJBHIYE, N. A.; KUMAR, S. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S1193–S1199, 2017.

DIAS, J. L.; MAZZUTTI, S.; DE SOUZA, J. A. L.; et al. Extraction of umbu (*Spondias tuberosa*) seed oil using CO<sub>2</sub>, ultrasound and conventional methods: Evaluations of composition profiles and antioxidant activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, n. November 2018, p. 10–18, 2019.

DONG, C.; LI, Z.; LIU, F.; et al. Effects of supercritical fluid parameters and emulsion formulation on the production of quercetin nanocapsules by supercritical fluid extraction of emulsion. **Chemical Engineering Science**, v. 205, p. 190–200, 2019.

DONG, X. Q.; ZOU, B.; ZHANG, Y.; et al. Preparation of A-type proanthocyanidin dimers from peanut skins and persimmon pulp and comparison of the antioxidant activity of A-type and B-type dimers. **Fitoterapia**, v. 91, p. 128–139, 2013.

DUC, P. A.; DHARANIPRIYA, P.; VELMURUGAN, B. K.; SHANMUGAVADIVU, M. Groundnut shell -a beneficial bio-waste. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, 2019.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88–95, 1961.

ESSIEN, S. O.; YOUNG, B.; BAROUTIAN, S. Recent advances in subcritical water and supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from plant materials. **Trends in Food Science and Technology**, v. 97, p. 156–169, 2020.

FAOSTAT. Crops - Peanut. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC>>. Acesso em: 11/2/2019.

FERNANDES, A. C. F.; MARTINS, I. M.; MOREIRA, D. K. T.; MACEDO, G. A. Use of agro-industrial residues as potent antioxidant, antiglycation agents, and  $\alpha$ -amylase and pancreatic lipase inhibitory activity. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 4, p. 1–12, 2020.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, n. 3, p. 235–245, 1999.

FERRO, D. M.; MAYER, D. A.; OLIVEIRA MÜLLER, C. M.; FERREIRA, S. R. S. Scale-up simulation of PLE process applied to recover bio-based materials from *Sida rhombifolia* leaves. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 166, 2020.

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

FIGUEIREDO-GONZÁLEZ, M.; GROSSO, C.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitors from *Myrcia* spp.: A stronger alternative to acarbose? **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 118, p. 322–327, 2016.



- FRANCO, D.; RODRÍGUEZ-AMADO, I.; AGREGÁN, R.; et al. Optimization of antioxidants extraction from peanut skin to prevent oxidative processes during soybean oil storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 88, p. 1–8, 2018.
- FRANCO, R. R.; DA SILVA CARVALHO, D.; DE MOURA, F. B. R.; et al. Antioxidant and anti-glycation capacities of some medicinal plants and their potential inhibitory against digestive enzymes related to type 2 diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 215, p. 140–146, 2018.
- FU, C.; YANG, X.; LAI, S.; et al. Structure, antioxidant and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of longan pericarp proanthocyanidins. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 23–32, 2015.
- GALLEGO, R.; BUENO, M.; HERRERO, M. Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae – An update. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 198–213, 2019.
- GARDEN, A. V. Amendoim (*Arachis hypogea* L.). Disponível em: <<https://www.amazevegegarden.com/growing-peanuts-the-right-way/>>. Acesso em: 12/11/2020.
- GARG, D.; KUMAR, S.; SHARMA, K.; MAJUMDER, C. B. Application of waste peanut shells to form activated carbon and its utilization for the removal of Acid Yellow 36 from wastewater. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 8, p. 512–519, 2019.
- GHISELLINI, P.; CIALANI, C.; ULGIATI, S. A review on circular economy: The expected transition to a balanced interplay of environmental and economic systems. **Journal of Cleaner Production**, v. 114, p. 11–32, 2016.
- GONZÁLEZ-ALONSO, V.; CAPPELLETTI, M.; BERTOLINI, F. M.; et al. Microbial inactivation of raw chicken meat by supercritical carbon dioxide treatment alone and in combination with fresh culinary herbs. **Poultry Science**, v. 7, p. 536–545, 2019.
- GRANATO, D.; SANTOS, J. S.; MACIEL, L. G.; NUNES, D. S. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 266–279, 2016.
- VAN HA, H.; POKORNÝ, J.; SAKURAI, H. Peanut skin antioxidants. **Journal of Food Lipids**, v. 14, n. 3, p. 298–314, 2007.
- HELENO, S. A.; DIZ, P.; PRIETO, M. A.; et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus* L. by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1054–1063, 2016.
- HERALD, T. J.; GADGIL, P.; TILLEY, M. High-throughput micro plate assays for screening flavonoid content and DPPH-scavenging activity in sorghum bran and flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 11, p. 2326–2331, 2012.
- HERRERO, M.; CASTRO-PUYANA, M.; MENDIOLA, J. A.; IBAÑEZ, E. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 67–83, 2013.
- HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBAÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae - A review. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 136–148, 2006.

- HERRERO, M.; IBÁÑEZ, E. Green extraction processes, biorefineries and sustainability: Recovery of high added-value products from natural sources. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 134, p. 252–259, 2018.
- HERRERO, M.; SÁNCHEZ-CAMARGO, A. DEL P.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 26–38, 2015.
- HIRONDART, M.; ROMBAUT, N.; FABIANO-TIXIER, A. S.; BILY, A.; CHEMAT, F. Comparison between pressurized liquid extraction and conventional Soxhlet extraction for rosemary antioxidants, yield, composition, and environmental footprint. **Foods**, v. 9, n. 5, 2020.
- HO, S. L.; LIN, Y.; TSAI, S.; LEE, S. In Silico Docking Analysis of A-type Proanthocyanidins to alpha-Glucosidase Constructed by Correlation with in Vitro Bioassay. **Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 4, p. 47, 2019.
- HSIEH-LO, M.; CASTILLO-HERRERA, G.; MOJICA, L. Black Bean Anthocyanin-Rich Extract from Supercritical and Pressurized Extraction Increased In Vitro Antidiabetic Potential, While Having Similar Storage Stability. **Foods**, v. 9, p. 703–703, 2020.
- HUANG, J.; SUN, Q.; SONG, G.; et al. Antioxidant and anti-isomerization effects of sesamol and resveratrol on high oleic acid peanut oil. **Lwt**, v. 123, p. 109077, 2020.
- ILYASOV, I. R.; BELOBORODOV, V. L.; SELIVANOVA, I. A.; TEREKHOV, R. P. ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, 2020.
- JABIR, N. R.; KHAN, F. R.; TABREZ, S. Cholinesterase targeting by polyphenols: A therapeutic approach for the treatment of alzheimer's disease. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 24, n. 9, p. 753–762, 2018.
- JAYAPRAKASH, A.; THANMALAGAN, R. R.; ROY, A.; ARUNACHALAM, A.; LAKSHMI, P. T. V. Strategies to understand *Aspergillus flavus* resistance mechanism in *Arachis hypogaea* L. **Current Plant Biology**, v. 20, p. 100123, 2019.
- JENTZER, J. B.; ALIGNAN, M.; VACA-GARCIA, C.; RIGAL, L.; VILAREM, G. Response surface methodology to optimise Accelerated Solvent Extraction of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. **Food Chemistry**, v. 166, p. 561–567, 2015.
- JI, J.; LIU, Y.; WANG, D. Comparison of de-skin pretreatment and oil extraction on aflatoxins, phthalate esters, and polycyclic aromatic hydrocarbons in peanut oil. **Food Control**, v. 118, p. 107365, 2020.
- JIANG, CHAO; CHEN, Y.; YE, X.; et al. Three flavanols delay starch digestion by inhibiting  $\alpha$ -amylase and binding with starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 172, p. 503–514, 2021.
- JIMENEZ-LOPEZ, C.; PEREIRA, A. G.; LOURENÇO-LOPES, C.; et al. Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. **Food Chemistry**, v. 341, p. 128262, 2021.
- JING, L.; WU, G.; KANG, D.; et al. Contemporary medicinal-chemistry strategies for the discovery of selective butyrylcholinesterase inhibitors. **Drug Discovery Today**, v. 24, n. 2, p. 629–635, 2019.

- JUSTINO, A. B.; MIRANDA, N. C.; FRANCO, R. R.; et al. *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with in vitro antidiabetic and inhibitory potential against  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 100, p. 83–92, 2018.
- KANG, H. J.; CHAWLA, S. P.; JO, C.; KWON, J. H.; BYUN, M. W. Studies on the development of functional powder from citrus peel. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 4, p. 614–620, 2006.
- KATALINIĆ, M.; RUSAK, G.; DOMAĆINOVIĆ BAROVIĆ, J.; et al. Structural aspects of flavonoids as inhibitors of human butyrylcholinesterase. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 1, p. 186–192, 2010.
- KAVITAKE, D.; BALYAN, S.; DEVI, P. B.; SHETTY, P. H. Interface between food grade flavour and water soluble galactan biopolymer to form a stable water-in-oil-in-water emulsion. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 445–452, 2019.
- KHAN, H.; MARYA; AMIN, S.; KAMAL, M. A.; PATEL, S. Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 101, p. 860–870, 2018.
- KHAN, M. T. H.; ORHAN, I.; ŞENOL, F. S.; et al. Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. **Chemico-Biological Interactions**, v. 181, n. 3, p. 383–389, 2009.
- KHUWIJITJARU, P.; SUAYLAM, B.; ADACHI, S. Degradation of caffeic acid in subcritical water and online HPLC-DPPH assay of degradation products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 8, p. 1945–1949, 2014.
- KNEZ, Ž.; PANTIĆ, M.; CÖR, D.; NOVAK, Z.; KNEZ HRNČIČ, M. Are supercritical fluids solvents for the future? **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 141, p. 107530, 2019.
- KO, M. J.; NAM, H. H.; CHUNG, M. S. Subcritical water extraction of bioactive compounds from *Orostachys japonicus* A. Berger (Crassulaceae). **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2020.
- KONUSKAN, D. B.; ARSLAN, M.; OKSUZ, A. Physicochemical properties of cold pressed sunflower, peanut, rapeseed, mustard and olive oils grown in the Eastern Mediterranean region. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 2, p. 340–344, 2019.
- KOPPELMAN, S. J.; JAYASENA, S.; LUYKX, D.; et al. Allergenicity attributes of different peanut market types. **Food and Chemical Toxicology**, v. 91, p. 82–90, 2016.
- KOUBAA, M.; ROSELLO, E.; JANA, S. Z.; et al. Current and New Insights in the Sustainable and Green Recovery of Nutritionally Valuable Compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 6835–6846, 2015.
- KUANG, Q.; YU, Y.; ATTREE, R.; XU, B. A comparative study on anthocyanin, saponin, and oil profiles of black and red seed coat peanut (*Arachis hypogaea*) grown in China. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 1, p. S131–S140, 2017.
- LACHOS-PEREZ, D.; BASEGGIO, A. M.; TORRES-MAYANGA, P. C.; et al. Sequential subcritical water process applied to orange peel for the recovery flavanones and sugars. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 160, 2020.

- LARRAURI, M.; ZUNINO, MARIA P.; ZYGADLO, J. A.; GROSSO, N. R.; NEPOTE, V. Chemical characterization and antioxidant properties of fractions separated from extract of peanut skin derived from different industrial processes. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 964–971, 2016.
- LARRAURI, M.; ZUNINO, MARIA P.; ZYGADLO, J. A.; GROSSO, N. R.; NEPOTE, V. Chemical characterization and antioxidant properties of fractions separated from extract of peanut skin derived from different industrial processes. **Industrial Crops & Products**, v. 94, p. 964–971, 2016.
- LASTA, H. F. B.; LENTZ, L.; GONÇALVES RODRIGUES, L. G.; et al. Pressurized liquid extraction applied for the recovery of phenolic compounds from beetroot waste. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. 101353, 2019.
- LEE, A. S.; LEE, K. M.; LEE, J. A.; CHOI, I. W. Peanut shell extract inhibits the development of dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis. **International Immunopharmacology**, v. 70, p. 235–240, 2019.
- LEWOYEHU, M.; AMARE, M.; YILDIZ, F. Comparative evaluation of analytical methods for determining the antioxidant activities of honey: A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 1685059, 2019.
- LI, K.; XU, Z. A review of current progress of supercritical fluid technologies for e-waste treatment. **Journal of Cleaner Production**, v. 227, p. 794–809, 2019.
- LI, P.; SAKURAGI, K.; MAKINO, H. Extraction techniques in sustainable biofuel production: A concise review. **Fuel Processing Technology**, v. 193, p. 295–303, 2019.
- LIMA, R. N.; RIBEIRO, A. S.; CARDOZO-FILHO, L.; VEDOY, D.; ALVES, P. B. Extraction from Leaves of Piper klotzschianum using Supercritical Carbon Dioxide and Co-Solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 147, p. 205–212, 2019.
- LIMMONGKON, A.; JANHOM, P.; AMTHONG, A.; et al. Antioxidant activity, total phenolic, and resveratrol content in five cultivars of peanut sprouts. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 4, p. 332–338, 2017.
- LIU, Y. F.; XU, Q. Q.; WANG, Y. Q.; ZHEN, M. Y.; YIN, J. Z. Preparation of supported ionic liquid membranes using supercritical fluid deposition based on  $\gamma$ -alumina membrane and imidazolium ionic liquids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 139, p. 88–96, 2018.
- LOIZZO, M. R.; TUNDIS, R.; CONFORTI, F.; et al. Salvia leriifolia Benth (Lamiaceae) extract demonstrates in vitro antioxidant properties and cholinesterase inhibitory activity. **Nutrition Research**, v. 30, n. 12, p. 823–830, 2010.
- LOPES, N. DE L.; ALMEIDA-COUTO, J. M. F.; SILVA, C. DA; et al. Evaluation of the effects of pressurized solvents and extraction process parameters on seed oil extraction in Pachira aquatica Naielen. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 161, 2020.
- LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E. S.; SANT'ANA, A. S.; et al. Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 77, p. 1–10, 2018.
- MA, Y. J.; DONG, W. BIN; FAN, C.; WANG, E. D. Identification of cow milk in goat milk by nonlinear chemical fingerprint technique. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 4, p. 751–758, 2017.
- MA, Y.; KERR, W. L.; CAVENDER, G. A.; et al. Effect of peanut skin incorporation on

- the color, texture and total phenolics content of peanut butters. **Journal of Food Process Engineering**, v. 36, p. 316–328, 2013.
- MARKL, D.; STROBEL, A.; SCHLOSSNIKL, R.; et al. Characterisation of pore structures of pharmaceutical tablets: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 538, n. 1–2, p. 188–214, 2018.
- MARTINS, L. M.; SANT'ANA, A. S.; FUNGARO, M. H. P.; et al. The biodiversity of *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in the Brazilian peanut production chain. **Food Research International**, v. 94, p. 101–107, 2017.
- MARTINS, N.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C.; et al. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 158, p. 73–80, 2014.
- MATOS, R. L.; VIEIRA DE MELO, S. A. B.; CABRAL ALBUQUERQUE, E. C. M.; FOSTER, N. R. Dense CO<sub>2</sub> technology: Overview of recent applications for drug processing/formulation/delivery. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 140, p. 64–77, 2019.
- MATTHÄUS, B. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3444–3452, 2002.
- MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S.; RIEHL, C. A. S.; et al. Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: Antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 70, p. 48–56, 2012.
- MAZZUTTI, S.; RODRIGUES, L. G. G.; MEZZOMO, N.; VENTURI, V.; FERREIRA, S. R. S. Integrated green-based processes using supercritical CO<sub>2</sub> and pressurized ethanol applied to recover antioxidant compounds from cocoa (*Theobroma cacao*) bean hulls. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 135, n. December 2017, p. 52–59, 2018.
- MEKAM, P. N.; MARTINI, S.; NGUEFACK, J.; TAGLIAZUCCHI, D.; STEFANI, E. Phenolic compounds profile of water and ethanol extracts of *Euphorbia hirta* L. leaves showing antioxidant and antifungal properties. **South African Journal of Botany**, v. 127, p. 319–332, 2019.
- MENDONÇA, F. M. R.; POLLONI, A. E.; JUNGES, A.; et al. Encapsulation of neem (*Azadirachta indica*) seed oil in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by SFEE technique. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 152, 2019.
- MENG, W.; SHI, J.; ZHANG, X.; et al. Effects of peanut shell and skin extracts on the antioxidant ability, physical and structure properties of starch-chitosan active packaging films. **International Journal of Biological Macromolecules**, p. 100632, 2020.
- MIEKUS, N.; IQBAL, A.; MARSZALEK, K.; PUCHALSKI, C.; ARTUR 'SWIERGIEL 1, 7. Green Chemistry Extractions of Carotenoids from *Daucus carota* L.—Supercritical Carbon Dioxide and Enzyme-Assisted Methods. **Molecules**, v. 24, p. 1–20, 2019.
- MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 3, p. 426–428, 1959.
- MOKRANI, A.; MADANI, K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. **Separation and Purification Technology**, v. 162, p. 68–76, 2016.
- MONAGAS, M.; GARRIDO, I.; LEBRÓN-AGUILAR, R.; et al. Comparative flavan-3-

- ol profile and antioxidant capacity of roasted peanut, hazelnut, and almond skins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 10590–10599, 2009.
- MONRAD, J. K.; SRINIVAS, K.; HOWARD, L. R.; KING, J. W. Design and optimization of a semicontinuous hot-cold extraction of polyphenols from grape pomace. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 22, p. 5571–5582, 2012.
- MONRAD, J. K.; SUÁREZ, M.; MOTILVA, M. J.; et al. Extraction of anthocyanins and flavan-3-ols from red grape pomace continuously by coupling hot water extraction with a modified expeller. **Food Research International**, v. 65, n. PA, p. 77–87, 2014.
- MORE, P. R.; ARYA, S. S. Intensification of bio-actives extraction from pomegranate peel using pulsed ultrasound: Effect of factors, correlation, optimization and antioxidant bioactivities. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 72, p. 105423, 2021.
- MORZELLE, M. C.; SALGADO, J. M.; MASSARIOLI, A. P.; et al. Potential benefits of phenolics from pomegranate pulp and peel in Alzheimer’s disease: antioxidant activity and inhibition of acetylcholinesterase. **Journal of Food Bioactives**, v. 5, p. 136–141, 2019.
- MOYO, M.; NDHLALA, A. R.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN, J. Phenolic composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Sclerocarya birrea* and *Harphephyllum caffrum* (Anacardiaceae) extracts. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 69–76, 2010.
- MUNEKATA, P. E. S.; CALOMENI, A. V.; RODRIGUES, C. E. C.; et al. Peanut skin extract reduces lipid oxidation in cooked chicken patties. **Poultry Science**, v. 94, n. 3, p. 442–446, 2015.
- MUNEKATA, PAULO EDUARDO SICHETTI; FERNANDES, R. DE P.; DE MELO, M. P.; TRINDADE, M. A.; LORENZO, J. M. Influence of peanut skin extract on shelf-life of sheep patties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 7, p. 586–596, 2016.
- MUNEKATA, P. E. S.; FERNANDES, R. P. P.; MELO, M. P.; TRINDADE, M. A.; LORENZO, J. M. Influence of peanut skin extract on shelf-life of sheep patties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 7, p. 586–596, 2016.
- MUNIR, M. T.; KHEIRKHAH, H.; BAROUTIAN, S.; QUEK, S. Y.; YOUNG, B. R. Subcritical water extraction of bioactive compounds from waste onion skin. **Journal of Cleaner Production**, v. 183, p. 487–494, 2018.
- MUÑOZ-ARRIETA, R.; ESQUIVEL-ALVARADO, D.; ALFARO-VIQUEZ, E.; et al. Nutritional and bioactive composition of Spanish, Valencia, and Virginia type peanut skins. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 98, p. 103816, 2021.
- MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8–18, 2011.
- NASCIMENTO, M. S.; CARMINATI, J. A.; SILVA, I. C. R. N.; et al. Salmonella, *Escherichia coli* and Enterobacteriaceae in the peanut supply chain: From farm to table. **Food Research International**, v. 105, p. 930–935, 2018.
- NEAGU, E.; PAUN, G.; ALBU, C.; RADU, G. L. Assessment of acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant activity of *Alchemilla vulgaris* and *Filipendula ulmaria* extracts. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 52, p. 1–6, 2015.

- NEGOITA, M.; MIHAI, A. L.; ADASCĂLULUI, A. C.; SPADARO, G.; IORGA, E. P58: ASSESSMENT OF FATTY ACID COMPOSITION OF PEANUT BUTTER FAT EXTRACTED THROUGH DIFFERENT EXTRACTION METHODS. **Metrology Promoting Harmonization & Standardization in Food & Nutrition**, v. 3, p. 378–382, 2017.
- NEGOITA, M.; MIHAI, A. L.; ADASCĂLULUI, A.; IORGA, E.; BELC, N. Comparison of the Fatty Acid Composition of Peanut Butter by Applying Different Fat Extraction Procedures. **Revista de chimie**, v. 69, 2018.
- NEPOTE, V.; GROSSO, N. R.; GUZMÁN, C. A. Optimization of extraction of phenolic antioxidants from peanut skins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 1, p. 33–38, 2005.
- NEŠIĆA, A.; GORDIĆA, M.; DAVIDOVIĆB, S.; et al. Pectin-based nanocomposite aerogels for potential insulated food packaging application. **Carbohydrate Polymers journal**, v. 195, p. 128–135, 2018.
- NEVES, G. B. M.; MOHAMED, R. S. THERMODYNAMIC MODELING OF THE FRACTIONATION OF BUTTER OIL WITH SUPERCRITICAL FLUIDS. **Food Science and Technology International**, v. 17, n. 4, 1997.
- NILE, A.; NILE, S. H.; KIM, D. H.; et al. Valorization of onion solid waste and their flavonols for assessment of cytotoxicity, enzyme inhibitory and antioxidant activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, p. 281–289, 2018.
- NILE, S. H.; NILE, A.; GANSUKH, E.; BASKAR, V.; KAI, G. Subcritical water extraction of withanosides and withanolides from ashwagandha (*Withania somnifera* L) and their biological activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 132, p. 110659, 2019.
- NILSSON, J.; PILLAI, D.; ÖNNING, G.; et al. Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods to assess the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 49, n. 3, p. 239–246, 2005.
- NKURUNZIZA, D.; PENDLETON, P.; SIVAGNANAM, S. P.; PARK, J. S.; CHUN, B. S. Subcritical water enhances hydrolytic conversions of isoflavones and recovery of phenolic antioxidants from soybean byproducts (okara). **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 80, p. 696–703, 2019.
- O'FALLON, J. V.; BUSBOOM, J. R.; NELSON, M. L.; GASKINS, C. T. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 6, p. 1511–1521, 2007.
- OJHA, K. S.; AZNAR, R.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K. Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 122, 2020.
- OKIYAMA, D. C. G.; SOARES, I. D.; CUEVAS, M. S.; et al. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. **Food Research International**, v. 114, p. 20–29, 2018.
- OKIYAMA, D. C. G.; SOARES, I. D.; TODA, T. A.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. C. Effect of the temperature on the kinetics of cocoa bean shell fat extraction using pressurized ethanol and evaluation of the lipid fraction and defatted meal. **Industrial Crops and Products**, v. 130, p. 96–103, 2019.
- OLDONI, T. L. C.; MELO, P. S.; MASSARIOLI, A. P.; et al. Bioassay-guided isolation

of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques. **Food Chemistry**, v. 192, p. 306–312, 2016.

OYEDEMI, S. O.; OYEDEMI, B. O.; IJEH, I. I.; et al. Alpha-Amylase Inhibition and Antioxidative Capacity of Some Antidiabetic Plants Used by the Traditional Healers in Southeastern Nigeria. **Scientific World Journal**, v. 2017, 2017.

OZER, H. K. Phenolic compositions and antioxidant activities of Maya nut (*Brosimum alicastrum*): Comparison with commercial nuts. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 11, p. 2772–2781, 2017.

PANDEY, R.; PATEL, S.; PANDIT, P.; NACHIMUTHU, S.; JOSE, S. Colouration of textiles using roasted peanut skin- an agro processing residue. **Journal of Cleaner Production**, v. 172, p. 1319–1326, 2018.

PANJA, P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 173–182, 2018.

PENDOTA, S. C.; ADEROGBA, M. A.; NDHLALA, A. R.; VAN STADEN, J. Antimicrobial and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Buddleja salviifolia* (L.) Lam. leaf extracts and isolated compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 2, p. 515–520, 2013.

PENG, J.; JIA, Y.; DU, X.; et al. Study of physicochemical stability of anthocyanin extracts from black peanut skin and their digestion enzyme and adipogenesis inhibitory activities. **Lwt**, v. 107, p. 107–116, 2019.

PEREIRA, B. V. R.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; COSTA, M. J.; et al. Cholinesterases characterization of three tropical fish species, and their sensitivity towards specific contaminants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 173, n. October 2018, p. 482–493, 2019.

PEREIRA, E. DOS S.; VINHOLES, J. R.; CAMARGO, T. M.; et al. Characterization of araçá fruits (*Psidium cattleianum* Sabine): Phenolic composition, antioxidant activity and inhibition of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. **Food Bioscience**, v. 37, p. 100665, 2020.

PÉREZ-ARAUZ, A. O.; AGUILAR-RABIELA, A. E.; VARGAS-TORRES, A.; et al. Production and characterization of biodegradable films of a novel polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesized from peanut oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, p. 100297, 2019.

PESSOA, A. S.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J. M.; et al. Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 101, p. 95–103, 2015.

PIECZYKOLAN, A.; PIETRZAK, W.; RÓJ, E.; NOWAK, R. Effects of Supercritical Carbon Dioxide Extraction (SC-CO<sub>2</sub>) on the content of tiliroside in the extracts from *Tilia L.* flowers. **Open Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 302–312, 2019.

PIZZOLITTO, R. P.; DAMBOLENA, J. S.; ZUNINO, M. P.; et al. Activity of natural compounds from peanut skins on *Fusarium verticillioides* growth and fumonisin B1 production. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 286–290, 2013.

PLAZA, M.; TURNER, C. Pressurized hot water extraction of bioactives. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 39–54, 2015.

PORĘBSKA, I.; SOKOŁOWSKA, B.; SKĄPSKA, S.; RZOSKA, S. J. Treatment with high hydrostatic pressure and supercritical carbon dioxide to control *Alicyclobacillus*



- acidoterrestris spores in apple juice. **Food Control**, v. 73, p. 24–30, 2017.
- PUTRA, NICKY RAHMANA; AZIZI, M.; YUNUS, C.; SYAFIQ, M.; RUSLAN, H. Comparison extraction of peanut skin between CO<sub>2</sub> supercritical fluid extraction and soxhlet extraction in term of oil yield and catechin. **SCIENCE & TECHNOLOGY**, v. 26, p. 799–810, 2018.
- PUTRA, NICKY RAHMANA; HAZIM ABDUL AZIZ, A.; NIAN YIAN, L.; DIYANA RAMLI, W.; AZIZI CHE YUNUS, M. Optimization of supercritical carbon dioxide and co-solvent ethanol extraction of wasted peanut skin using response surface methodology. **MATEC Web of Conferences**, v. 156, 2018.
- PUTRA, NICKY RAHMANA; NUR, D.; AHMAD, R.; et al. Effect of particle size on yield extract and antioxidant activity of peanut skin using modified supercritical carbon dioxide and soxhlet extraction. , p. 1–9, 2018.
- PYRZYNSKA, K.; PEKAL, A. Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. **Analytical Methods**, v. 5, n. 17, p. 4288–4295, 2013.
- QINZHU, Z.; YAN-LING, C.; DONG-XIAO, S.; et al. Process optimization and anti-oxidative activity of peanut meal Maillard reaction products. **Lwt**, v. 97, p. 573–580, 2018.
- RAJHA, H. N.; ZIEGLER, W.; LOUKA, N.; et al. Effect of the drying process on the intensification of phenolic compounds recovery from grape pomace using accelerated solvent extraction. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 18640–18658, 2014.
- RAMAKRISHNA, R.; SARKAR, D.; SCHWARZ, P.; SHETTY, K. Phenolic linked anti-hyperglycemic bioactives of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars as nutraceuticals targeting type 2 diabetes. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 509–517, 2017.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; et al. ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL CATION DECOLORIZATION ASSAY. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.
- RIBEIRO, D. N.; ALVES, F. M. S.; DOS SANTOS RAMOS, V. H.; et al. Extraction of passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.) pulp oil using pressurized ethanol and ultrasound: Antioxidant activity and kinetics. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 165, 2020.
- RICO, X.; GULLÓN, B.; ALONSO, J. L.; YÁÑEZ, R. Recovery of high value-added compounds from pineapple, melon, watermelon and pumpkin processing by-products: An overview. **Food Research International**, v. 132, p. 109086, 2020.
- RODRIGUES, A. C.; STRÖHER, G. L.; FREITAS, A. R.; et al. The effect of genotype and roasting on the fatty acid composition of peanuts. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 187–192, 2011.
- RODRIGUES, L. G. G.; MAZZUTTI, S.; SIDDIQUE, I.; et al. Subcritical water extraction and microwave-assisted extraction applied for the recovery of bioactive components from Chaya (*Cnidioscolus aconitifolius* Mill.). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 165, p. 104976, 2020.
- RODRIGUES, L. G. G.; MAZZUTTI, S.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; FERREIRA, S. R. S. Recovery of bioactive phenolic compounds from papaya seeds agroindustrial residue using subcritical water extraction. **Biocatalysis and Agricultural**

**Biotechnology**, v. 22, p. 101367, 2019.

ROJAS, V. M.; MARCONI, L. F. DA C. B.; GUIMARÃES-INÁCIO, A.; et al. Formulation of mayonnaises containing PUFAs by the addition of microencapsulated chia seeds, pumpkin seeds and baru oils. **Food Chemistry**, v. 274, p. 220–227, 2019.

ROSELLÓ-SOTO, E.; KOUBAA, M.; MOUBARIK, A.; et al. Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: Non-conventional methods for the recovery of high-added value compounds. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 296–310, 2015.

ROSSI, Y. E.; BOHL, L. P.; VANDEN BRABER, N. L.; et al. Polyphenols of peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin as bioprotectors of normal cells. Studies of cytotoxicity, cytoprotection and interaction with ROS. **Journal of Functional Foods**, v. 67, p. 103862, 2020.

RUDKE, A. R.; MAZZUTTI, S.; ANDRADE, K. S.; VITALI, L.; FERREIRA, S. R. S. Optimization of green PLE method applied for the recovery of antioxidant compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L.) shell. **Food Chemistry**, v. 298, n. March, p. 125061, 2019.

SAEEDI, P.; PETERSOHN, I.; SALPEA, P.; et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 157, p. 107843, 2019.

SALDAÑA, M. D. A.; DOS REIS COIMBRA, J. S.; CARDOZO-FILHO, L. Recovery, encapsulation and stabilization of bioactives from food residues using high pressure techniques. **Current Opinion in Food Science**, v. 5, p. 76–85, 2015.

SARNOSKI, P. J.; BOYER, R. R.; O'KEEFE, S. F. Application of Proanthocyanidins from Peanut Skins as a Natural Yeast Inhibitory Agent. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 4, 2012.

SARNOSKI, P. J.; JOHNSON, J. V.; REED, K. A.; TANKO, J. M.; O'KEEFE, S. F. Separation and characterisation of proanthocyanidins in Virginia type peanut skins by LC-MSn. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 927–939, 2012.

SAWATDEENARUNAT, C.; NAM, H.; ADHIKARI, S.; SUNG, S.; KHANAL, S. K. Decentralized biorefinery for lignocellulosic biomass: Integrating anaerobic digestion with thermochemical conversion. **Bioresource Technology**, v. 250, p. 140–147, 2018.

SCHMATZ, R.; MAZZANTI, C. M.; SPANEVELLO, R.; et al. Resveratrol prevents memory deficits and the increase in acetylcholinesterase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 610, n. 1–3, p. 42–48, 2009.

SEREEWATTHANAWUT, I.; PRAPINTIP, S.; WATCHIRARUJI, K.; et al. Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 3, p. 555–561, 2008.

SHEM-TOV, Y.; BADANI, H.; SEGEV, A.; et al. Determination Of Total Polyphenol, Flavonoid And Anthocyanin Contents And Antioxidant Capacities Of Skins From Peanut (*Arachis Hypogaea*) Lines With Different Skin Colors. **Journal of Food Biochemistry**, v. 36, n. 3, p. 301–308, 2012.

SHIN, E. C.; CRAFT, B. D.; PEGG, R. B.; PHILLIPS, R. D.; EITENMILLER, R. R. Chemometric approach to fatty acid profiles in Runner-type peanut cultivars by principal

- component analysis (PCA). **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1262–1270, 2010.
- SIDDEEG, A.; ALKEHAYEZ, N. M.; ABU-HIAMED, H. A.; AL-SANEA, E. A.; AL-FARGA, A. M. Mode of action and determination of antioxidant activity in the dietary sources: An overview. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2020.
- SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, 2016.
- SILVA, S. M.; KOEHNLEIN, E. A.; BRACHT, A.; et al. Inhibition of salivary and pancreatic  $\alpha$ -amylases by a pinhão coat (*araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, v. 56, p. 1–8, 2014.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.; M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, p. 152–178, 1999.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.
- SNYDER, L. R. CLASSIFICATION OF THE SOLVENT PROPERTIES OF COMMON LIQUIDS. **Journal of Chromatography A**, v. 92, p. 223–230, 1974.
- SOBOLEV, V. S.; COLE, R. J. Note on utilisation of peanut seed testa. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 1, p. 105–111, 2004.
- SORITA, G. D.; LEIMANN, F. V.; FERREIRA, S. R. S. Biorefinery approach: Is it an upgrade opportunity for peanut by-products? **Trends in Food Science and Technology**, v. 105, p. 56–69, 2020.
- SOVOVÁ, H. RATE OF THE VEGETABLE OIL EXTRACTION WITH SUPERCRITICAL CO<sub>2</sub>--I. MODELLING OF EXTRACTION CURVES. **Chemical Engineering Science**, v. 49, p. 409–414, 1994.
- SUN, C.; WU, Z.; WANG, Z.; ZHANG, H. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.
- SZABÓ, K.; MACCARI, R.; OTTANÀ, R.; GYÉMÁNT, G. Extending the investigation of 4-thiazolidinone derivatives as potential multi-target ligands of enzymes involved in diabetes mellitus and its long-term complications: A study with pancreatic  $\alpha$ -amylase. **Carbohydrate Research**, v. 499, 2020.
- TAMKUTĚ, L.; LIEPUONIŪTĚ, R.; PUKALSKIENĚ, M.; VENSKUTONIS, P. R. Recovery of valuable lipophilic and polyphenolic fractions from cranberry pomace by consecutive supercritical CO<sub>2</sub> and pressurized liquid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 159, 2020.
- TAMURA, T.; OZAWA, M.; KOBAYASHI, S.; et al. Inhibitory effect of oligomeric polyphenols from peanut-skin on sugar digestion enzymes and glucose transport. **Food Science and Technology Research**, v. 21, n. 1, p. 111–115, 2015.
- TEIXEIRA, R. F.; BENVENUTTI, L.; BURIN, V. M.; et al. An eco-friendly pressure liquid extraction method to recover anthocyanins from broken black bean hulls. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 67, p. 102587, 2021.
- TEO, C. C.; TAN, S. N.; YONG, J. W. H.; HEW, C. S.; ONG, E. S. Pressurized hot water

- extraction (PHWE). **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2484–2494, 2010.
- TOOMER, O. T.; VU, T.; PEREIRA, M.; WILLIAMS, K. Dietary supplementation with peanut skin polyphenolic extracts (PSPE) reduces hepatic lipid and glycogen stores in mice fed an atherogenic diet. **Journal of Functional Foods**, v. 55, p. 362–370, 2019.
- UNUSAN, N. Proanthocyanidins in grape seeds: An updated review of their health benefits and potential uses in the food industry. **Journal of Functional Foods**, v. 67, p. 103861, 2020.
- VEGGI, P. C.; CAVALCANTI, R. N.; MEIRELES, M. A. A. Production of phenolic-rich extracts from Brazilian plants using supercritical and subcritical fluid extraction: Experimental data and economic evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 96–109, 2014.
- VERGARA-SALINAS, J. R.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; TORRES, J. L.; AGOSIN, E.; PÉREZ-CORREA, J. R. Effects of temperature and time on polyphenolic content and antioxidant activity in the pressurized hot water extraction of deodorized thyme (*Thymus vulgaris*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 44, p. 10920–10929, 2012.
- VIEIRA, A. H.; BALTHAZAR, C. F.; GUIMARAES, J. T.; et al. Advantages of microfiltration processing of goat whey orange juice beverage. **Food Research International**, v. 132, p. 109060, 2020.
- VIGANÓ, J.; AGUIAR, A. C.; MORAES, D. R.; et al. Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse. **Food Research International**, v. 85, p. 51–58, 2016.
- VIGANÓ, J.; BRUMER, I. Z.; BRAGA, P. A. DE C.; et al. Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 382–390, 2016.
- VIGANÓ, J.; MARTINEZ, J. Trends for the Application of Passion Fruit Industrial By-products: A Review on the Chemical Composition and Extraction Techniques of Phytochemicals. **Food and Public Health**, v. 5, n. 5, p. 164–173, 2015.
- VILLEGAS, M.; OLIVEIRA, A. L.; BAZITO, R. C.; VIDINHA, P. Development of an integrated one-pot process for the production and impregnation of starch aerogels in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 154, p. 104592, 2019.
- VLADIĆ, J.; CANLI, O.; PAVLIĆ, B.; et al. Optimization of Satureja montana subcritical water extraction process and chemical characterization of volatile fraction of extracts. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 86–94, 2017.
- VOROBEL, A. M.; POKROVSKIY, O. I.; USTINOVICH, K. B.; PARENAGO, O. O.; LUNIN, V. V. A method for measuring solubility in multi-component sub- and supercritical fluids using an online hyphenation of supercritical antisolvent precipitation and supercritical fluid chromatography. **Journal of Molecular Liquids**, v. 280, p. 212–217, 2019.
- WAGON, S. **Mathematica in action**. Springer Science & Business Media, 1999.
- WANG, J.; YUAN, X.; JIN, Z.; TIAN, Y.; SONG, H. Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 242–250, 2007.
- WANG, M.; CHEN, J.; YE, X.; LIU, D. In vitro inhibitory effects of Chinese bayberry

(*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) leaves proanthocyanidins on pancreatic  $\alpha$ -amylase and their interaction. **Bioorganic Chemistry**, v. 101, p. 104029, 2020.

WEI, S.; HUANG, J.; ZHANG, L.; et al. Physicochemical Properties and Stabilities of Crude and Purified Oil Bodies Extracted from High Oleic Peanuts. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 122, n. 4, p. 1–10, 2020.

WIANOWSKA, D.; GIL, M. Critical approach to PLE technique application in the analysis of secondary metabolites in plants. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 114, p. 314–325, 2019.

WICKRAMARATNE, M. N.; PUNCHIHEWA, J. C.; WICKRAMARATNE, D. B. M. In-vitro alpha amylase inhibitory activity of the leaf extracts of *adenanthera pavonina*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 1–5, 2016.

WOŁOSZYN, J.; HARAFA, G.; OKRUSZEK, A.; et al. Fatty acid profiles and health lipid indices in the breast muscles of local Polish goose varieties. **Poultry Science**, v. 99, n. 2, p. 1216–1224, 2020.

WU, L. X.; DING, X. X.; LI, P. W.; et al. Aflatoxin contamination of peanuts at harvest in China from 2010 to 2013 and its relationship with climatic conditions. **Food Control**, v. 60, p. 117–123, 2016.

XIAO, F.; XU, T.; LU, B.; LIU, R. Guidelines for antioxidant assays for food components. **Food Frontiers**, v. 1, n. 1, p. 60–69, 2020.

XU, J.; ZHANG, H.; ZHU, B.; XIE, J. Critical supercritical-boiling-number to determine the onset of heat transfer deterioration for supercritical fluids. **Solar Energy**, v. 195, p. 27–36, 2020.

YANG, B.; CHENG, Z.; YUAN, T.; SHEN, Z. Catalytic oxidation of various aromatic compounds in supercritical water: Experimental and DFT study. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 100, p. 47–55, 2019.

YANG, X.; QIANG, X.; LI, Y.; et al. Pyridoxine-resveratrol hybrids Mannich base derivatives as novel dual inhibitors of AChE and MAO-B with antioxidant and metal-chelating properties for the treatment of Alzheimer's disease. **Bioorganic Chemistry**, v. 71, p. 305–314, 2017.

YE, L.; NEILSON, A. Comparison of A-type Proanthocyanidins in Cranberry and Peanut Skin Extracts Using Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. **Journal of Molecular and Genetic Medicine**, v. 10, n. 2, 2016.

YE, Z. W.; JIANG, J. G.; WU, G. H. **Biosynthesis and regulation of carotenoids in *Dunaliella*: Progresses and prospects** *Biotechnology Advances*, 2008.

YOUSEFI, M.; RAHIMI-NASRABADI, M.; POURMORTAZAVI, S. M.; et al. Supercritical fluid extraction of essential oils. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 182–193, 2019.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. **Food Chemistry**, v. 90, p. 199–206, 2005.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I. Potential of peanut skin phenolic extract as antioxidative and antibacterial agent in cooked and raw ground beef. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 7, p. 1337–1344, 2010.

YU, J.; AHMEDNA, M.; GOKTEPE, I.; DAI, J. Peanut skin procyanidins: Composition

and antioxidant activities as affected by processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 4, p. 364–371, 2006.

YU, Y.; SUN, X.; GAO, F. Inhibitory Effect of Polyphenols Extracts from Peanut Shells on the Activity of Pancreatic Lipase in vitro. **Asian journal of chemistry**, v. 26, p. 6097–6100, 2014.

ZAABOUL, F.; RAZA, H.; CAO, C.; YUANFA, L. The impact of roasting, high pressure homogenization and sterilization on peanut milk and its oil bodies. **Food Chemistry**, v. 280, p. 270–277, 2019.

ZHANG, J. Fatty Acid Methyl Esters (FAMES) Analysis on an Agilent 8890 GC and Its Application to Real Samples. **Application Note Food Testing Fatty**, v. 5994–0549, p. 1–8, 2019.

ZHANG, J.; WEN, C.; ZHANG, H.; DUAN, Y.; MA, H. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 95, p. 183–195, 2020.

ZHAO, Z.; WU, M.; ZHAN, Y.; et al. Characterization and purification of anthocyanins from black peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin by combined column chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1519, p. 74–82, 2017.

ZOU, S.; TSENG, Y. C.; ZARE, A.; et al. Peanut maturity classification using hyperspectral imagery. **Biosystems Engineering**, v. 188, p. 165–177, 2019.

## ANEXO I - O MODELO DE SOVOVÁ (1994)

O modelo de Sovová (1994) baseia-se em balanços de massa que consideram o escoamento axial do solvente com velocidade superficial ( $U$ ) através de um leito fixo de seção transversal cilíndrica. O leito é considerado homogêneo em relação ao tamanho das partículas e à distribuição inicial de soluto. O soluto encontra-se nas células do sólido, protegido pela parede celular. Algumas células apresentam sua parede celular rompida tornando parte do soluto exposto ao solvente. Além disso, o solvente se encontra livre de soluto na entrada do extrator e a pressão e a temperatura de operação permanecem constantes durante o processo. A quantidade inicial de soluto ( $O$ ) é dividida entre o soluto de fácil acesso, que se encontra na superfície do sólido ( $P$ ) e o soluto não acessível, que se encontra no interior do sólido ( $K$ ), como mostra a Equação 14.

$$O = P + K \quad \text{Equação 14}$$

A massa do soluto na fase sólida ( $N$ ) não se altera durante a extração, podendo expressar a concentração de soluto na fase sólida, Equação 15.

$$\frac{O}{N} = \frac{P}{N} + \frac{K}{N} \quad \text{Equação 15}$$

A Equação 15 é equivalente a Equação 16, à qual é expressada por concentração molar.

$$X_0 = X_P + X_K \quad \text{Equação 16}$$

Onde:

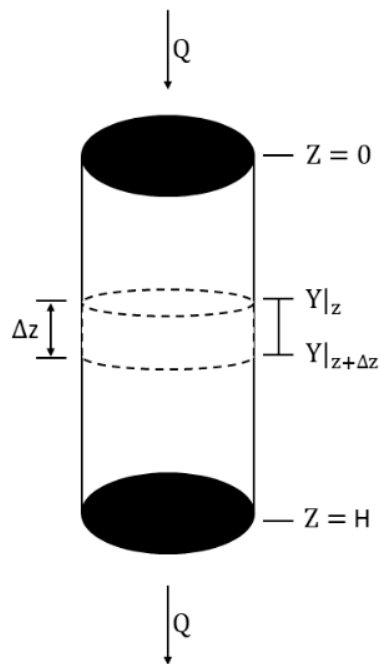
$X_0$  é a concentração do soluto inicial;

$X_P$  é a concentração do soluto na superfície, soluto de fácil acesso;

$X_K$  é a concentração do soluto no interior do sólido, soluto não acessível.

A modelagem matemática fenomenológica do processo de extração supercrítica é baseada em balanços de massa, expresso pelo Equação 17. A Figura 20 representa o leito poroso e o elemento de volume e o volume de controle sobre o qual são aplicados os balanços.

Figura 20 - Representação do elemento de volume e volume de controle.



Fonte: Autor

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{Entrada} \\ \text{de soluto} \\ \text{no volume} \\ \text{de controle} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{l} \text{Saída} \\ \text{de soluto} \\ \text{no volume} \\ \text{de controle} \end{array} \right\} \pm \left\{ \begin{array}{l} \text{Geração (+)} \\ \text{ou consumo (-)} \\ \text{de soluto} \\ \text{no volume} \\ \text{de controle} \end{array} \right\} = \left\{ \begin{array}{l} \text{Acúmulo} \\ \text{de soluto} \\ \text{no volume} \\ \text{de controle} \end{array} \right\}$$

Equação 17

O extrator cilíndrico possui área de seção transversal constante e equivalente à  $A$  ( $L^2$ ), portanto o elemento de volume é expresso pela Equação 18

$$\Delta V = A \cdot \Delta z \quad \text{Equação 18}$$

Onde:

$z$  representa a coordenada axial do extrator ( $L$ );

$V$  representa o volume do extrator ( $L^3$ );

$A$  representa a área de seção transversal do extrator ( $L^2$ ).



## BALANÇO DE MASSA NA FASE SÓLIDA

Aplicando as considerações, ausência de entrada, geração, consumo do soluto e que o fluxo é exclusivamente avaliado na direção z, na Equação 18, a variação da massa de soluto (extrato) na fase sólida do elemento de volume  $\Delta V$  é dado pela Equação 19.

$$\left(\frac{\Delta m}{\Delta t}\right)_{\text{Fase Sólida}} = -J \cdot \Delta V \quad \text{Equação 19}$$

Onde:

$\Delta m$  a variação da massa na fase sólida (M);

$\Delta t$  a variação do tempo (T);

J a taxa de transferência de massa do soluto na fase sólida ( $M \cdot T^{-1} \cdot L^3$ );

$\Delta V$  elemento de volume ( $L^3$ ).

A taxa de transferência de massa, "J" ( $M \cdot L^{-3} \cdot T^{-1}$ ) é expressa por unidade de volume do extrator. A massa do soluto, nesse caso, é expressa em função de sua concentração na fase sólida, conforme a Equação 20.

$$m_{FS} = X \cdot \rho_s \cdot (1 - \varepsilon) \cdot \Delta V \quad \text{Equação 20}$$

Sendo:

$m_{FS}$  a massa do soluto (M);

X a concentração do extrato na matriz vegetal;

$\rho_s$  a densidade do sólido ( $M \cdot L^{-3}$ );

$\varepsilon$  Porosidade do leito, ou a fração de vazios (adimensional).

Considerando a densidade do sólido, a porosidade do leito e o volume constantes e substituindo a Equação 19 na Equação 18, obtemos a Equação 21.

$$\frac{\Delta X}{\Delta t} = -\frac{J}{\rho_s \cdot (1 - \varepsilon)} \quad \text{Equação 21}$$

Aplicando o limite com  $\Delta t \rightarrow 0$ , obtemos o balanço de massa do soluto na fase sólida expresso pela Equação 22.

$$\frac{\delta X}{\delta t} = -\frac{J}{\rho_s \cdot (1 - \varepsilon)} \quad \text{Equação 22}$$

A Equação 9 demonstra que a variação da massa do soluto na fase sólida é função apenas da taxa de extração para a fase fluida (solvente).

### BALANÇO DE MASSA NA FASE FLUIDA

Devido ao fato de o solvente estar em movimento no interior do leito, para o balanço de massa na fase fluida, deve-se considerar os termos convectivos. Durante o processo há entrada e saída de solvente, não há geração, nem consumo de solvente no leito. Aplicando essas condições na Equação 17, obtemos a Equação 23.

$$\left(\frac{\Delta m}{\Delta t}\right)_{\text{Fase Fluida}} = Q \cdot Y_z - Q \cdot Y_{z+\Delta z} + J \cdot \Delta V \quad \text{Equação 23}$$

Sendo:

Q a vazão mássica do solvente ( $M.T^{-1}$ );

$Y_z$  a concentração do solvente na posição z;

$Y_{z+\Delta z}$  a concentração do solvente na posição  $z + \Delta z$ ;

J a taxa de transferência de massa do soluto na fase sólida ( $M.T^{-1} \cdot L^3$ ).

A taxa de transferência de massa, "J" ( $M.L^{-3}.T^{-1}$ ) também é expressa por unidade de volume do extrator, ao expressar a massa do soluto em função de sua concentração, conforme a Equação 24.

$$m_{FF} = Y \cdot \rho \cdot \varepsilon \cdot \Delta V \quad \text{Equação 24}$$

Q a vazão mássica do solvente ( $M.T^{-1}$ );

$Y_z$  a concentração do solvente na posição z;

$Y_{z+\Delta z}$  a concentração do solvente na posição  $z + \Delta z$ ;

J a taxa de transferência de massa do soluto na fase sólida ( $M.T^{-1}.L^3$ ).

Para a substituição da Equação 24 na Equação 23 para a obtenção da Equação 25 são necessárias algumas considerações, sendo elas a massa específica do solvente, o elemento de volume e a porosidade do leito constantes.

$$\frac{\Delta Y}{\Delta t} = \frac{Q \cdot (Y_z - Y_{z+\Delta z})}{\rho \cdot \varepsilon \cdot \Delta V} + \frac{J}{\rho \cdot \varepsilon} \quad \text{Equação 25}$$

Considerando que a vazão do solvente pode ser expressa em função de sua velocidade no interior do leito, obtendo a Equação 26, a qual é substituída na Equação 25, juntamente com a Equação 18, obtendo a Equação 27.

$$Q = U \cdot \rho \cdot \varepsilon \cdot A \quad \text{Equação 26}$$

$$\frac{\Delta Y}{\Delta t} = \frac{U \cdot (Y_z - Y_{z+\Delta z})}{\Delta z} + \frac{J}{\rho \cdot \varepsilon} \quad \text{Equação 27}$$

Sendo:

U a velocidade no interior do leito (L.T<sup>2</sup>);

Y<sub>z</sub> a concentração do solvente na posição z;

Y<sub>z+Δz</sub> a concentração do solvente na posição z + Δz;

Δz a variação da coordenada axial (L).

Considerando o comprimento do elemento de volume infinitesimal (levando o volume de controle a um ponto) e novamente tomando o limite Δt → 0 (Equação 28), obtemos a variação da massa do soluto (Equação 29).

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{U \cdot (Y_z - Y_{z+\Delta z})}{\Delta z} = -U \cdot \frac{\delta Y}{\delta z} \quad \text{Equação 28}$$

$$\frac{\delta Y}{\delta t} = \frac{J}{\rho \cdot \varepsilon} - U \cdot \frac{\delta Y}{\delta z} \quad \text{Equação 29}$$

Y<sub>z</sub> a concentração do solvente na posição z;

Y<sub>z+Δz</sub> a concentração do solvente na posição z + Δz;

Δz a variação da coordenada axial (L);

U a velocidade no interior do leito (LT<sup>2</sup>);

ρ concentração do solvente (ML<sup>3</sup>);

ε Porosidade do leito, ou a fração de vazios (adimensional);

J a taxa de transferência de massa do soluto na fase sólida (MT<sup>-1</sup>L<sup>3</sup>).

Sovová (1994) expressa a taxa de transferência de massa entre as fases sólida e fluida pelas Equações 30 e 31, a mesma ainda considera o primeiro termo da Equação 18 desprezível, uma vez que a transferência de massa por dispersão, tanto na fase sólida como na fase líquida pode ser negligenciada e ainda quando comparada com a

transferência de massa convectiva a dispersão de soluto na fase fluida é desprezível, obtendo-se a Equação 32.

$$J(X, Y) = -\rho_s \cdot (1 - \varepsilon) \cdot \frac{\delta X}{\delta t} \quad \text{Equação 30}$$

$$J(X, Y) = \rho \cdot \varepsilon \cdot \frac{\delta Y}{\delta t} - \rho \cdot U \cdot \frac{\delta Y}{\delta z} \quad \text{Equação 31}$$

$$J(X, Y) = \rho \cdot U \cdot \frac{\delta Y}{\delta z} \quad \text{Equação 32}$$

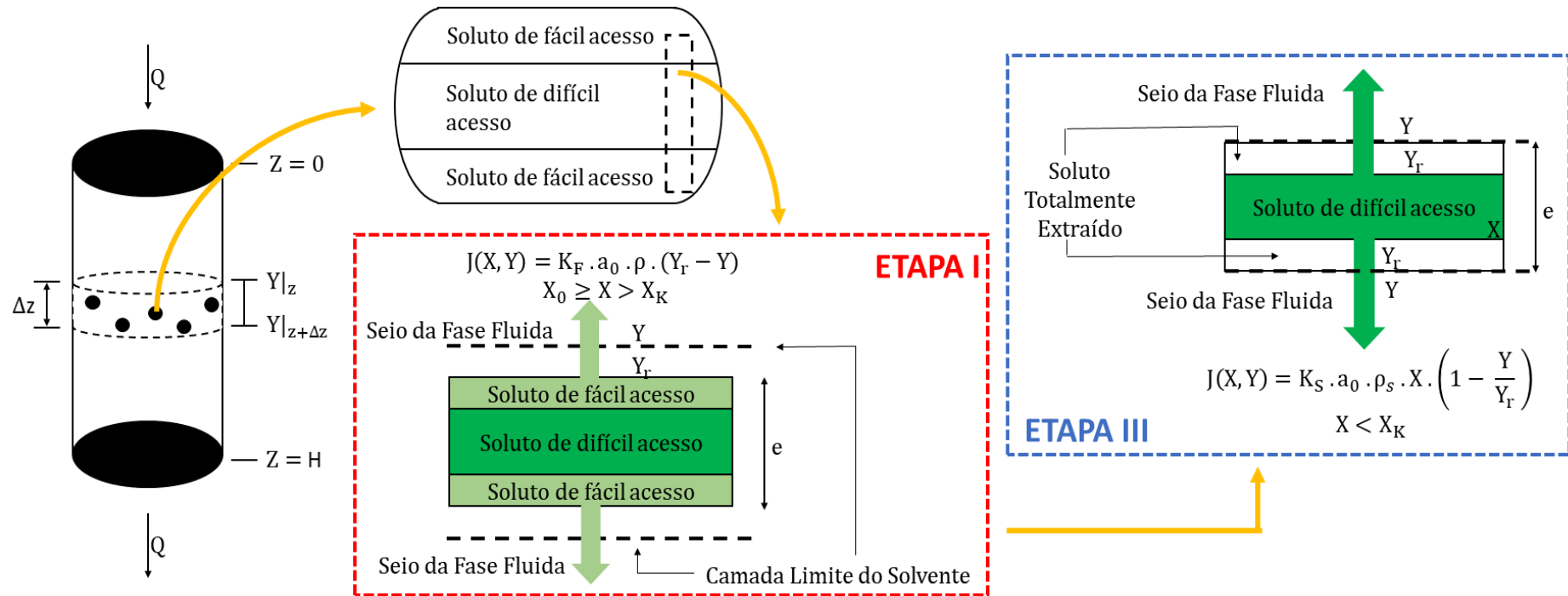
Sovová (1994) define duas condições de contorno, uma para o balanço de massa da fase fluida e uma para o balanço de massa da fase sólida, as quais estão representadas pelas Equações 32 e 33.

$$X(z, t = 0) = X_0 \quad \text{Equação 32}$$

$$X(z = 0, t) = 0 \quad \text{Equação 33}$$

Como já dito anteriormente, Sovová (1994) a Etapa I é controlada pela fase fluida, pelo mecanismo de convecção, sendo a força motriz a diferença de concentração na fase fluida (inicialmente zero) e na interface com a camada de extrato livre. O fim dessa etapa acontece quando todo o extrato livre (soluto de fácil acesso) é removido da superfície da matriz alimentar vegetal, como mostra a Figura 21, e a concentração da fase sólida atinge  $X_K$ , desta forma a taxa de transferência de massa para essa etapa é calculada pela Equação 34.

Figura 21 - Mecanismo de transferência de massa proposto por Sovová (1994).



Fonte: Autor

$$J(X_0 \geq X > X_K, Y) = K_F \cdot a_0 \cdot \rho \cdot (Y_r - Y) \quad \text{Equação 34}$$

$K_F$  coeficiente de transferência de massa na fase fluida ( $LT^{-1}$ );

$a_0$  área superficial específica da partícula ( $L^2$ );

$Y_r$  solubilidade do soluto na fase fluida (adimensional);

$X_0$  concentração inicial do soluto (adimensional);

$X_K$  concentração do soluto de fácil acesso (adimensional).

Na segunda etapa (Etapa III), é necessário levar em consideração a resistência à transferência de massa na interface sólido-fluido, ocasionada pelas falhas na camada superficial de soluto que recobre as partículas, desse modo Sovová (1994) utiliza a Equação 35 para o cálculo da taxa de transferência de massa.

$$J(X < X_K, Y) = K_S \cdot a_0 \cdot \rho_s \cdot X \cdot \left(1 - \frac{Y}{Y_r}\right) \quad \text{Equação 35}$$

$K_S$  coeficiente de transferência de massa do soluto na fase sólida ( $LT^{-1}$ )

A resolução analítica do modelo de Sovová (1994) é iniciada a partir da inserção de algumas variáveis adimensionais, expressas pelas Equações 36, 37, 38 e 39.

$$r = \frac{X}{X_K} \quad \text{Equação 36}$$

$$Y = 1 - \frac{Y}{Y_r} \quad \text{Equação 37}$$

$$h = \frac{K_F \cdot a_0}{U} \cdot z \quad \text{Equação 38}$$

$$\tau = \frac{K_S \cdot a_0 \cdot \rho \cdot Y_r}{(1 - \varepsilon) \cdot \rho_s \cdot X_K} \cdot t \quad \text{Equação 39}$$

$r$  concentração da fase sólida definida pela Equação 36, em outras palavras, a eficiência da moagem (adimensional);

$h$  coordenada adimensional definida pela Equação 38;

$\tau$  tempo adimensional definido pela Equação 39.

Ao introduzir as Equações 36 a 39 e as condições de contorno, Equação 32 e 33, no balanço de massa, tem-se a Equação 40, com as suas respectivas condições de contorno, Equações 41 e 42, sendo  $J^*(r, Y)$  definido pela Equação 43.

$$-J^*(r, Y) = \frac{\delta Y}{\delta h} = \frac{\delta r}{\delta \tau} \quad \text{Equação 40}$$

$$r(h, \tau = 0) = r_0 \quad \text{Equação 41}$$

$$r(h = 0, \tau) = 1 \quad \text{Equação 42}$$

$$J^*(r, Y) = \frac{J(X, Y)}{K_F \cdot a_0 \cdot \rho \cdot Y_r} \quad \text{Equação 43}$$

$J^*$  taxa de transferência de massa normalizada definida pela Equação 43.

Com essas transformações Sovová (1994) também modifica a Equação 34, utilizada para o período de extração rápida, obtendo a Equação 44.

$$J^*(r > 1, Y) = Y \quad \text{Equação 44}$$

Para o período de extração mais lento, foi assumido que a taxa de transferência de massa adimensional,  $J^*(r, Y)$ , como um produto de  $Y$  com uma função definida,  $f(r)$ , conforme a Equação 45, sendo essa Equação válida quando a mesma obedece às Equações 46 e 47.

$$J^*(r, Y) = f(r) \cdot Y \quad \text{Equação 45}$$

$$f(r > 1) = 1 \quad \text{Equação 46}$$

$$f(r \leq 1) \leq 1 \quad \text{Equação 47}$$

$f(r)$  função definidora do retardo da extração por difusão dentro das partículas

Para determinar o perfil de concentração no período de extração lento, Sovová (1994) substituiu a Equação 45 na Equação 40, com as condições de contorno expressas pelas Equações 41 e 42, eliminando o  $Y$  e integrando-a obtém-se a Equação 48, com a condição de contorno expressa pela Equação 49.

$$\frac{1}{f(r)} \cdot \frac{\delta r}{\delta h} + r = r_0 \quad \text{Equação 48}$$

$$\frac{\delta r (h = 0, \tau)}{\delta \tau} = -f(r) \quad \text{Equação 49}$$

Para o mesmo período, a autora também definiu uma solução analítica para  $f(r) = r$ , como mostra a Equação 50.

$$f(r \leq 1) = k \cdot r \quad \text{Equação 50}$$

A função do k é introduzir o coeficiente de transferência de massa da fase sólida, definido pela Equação 51.

$$k = \frac{K_S \cdot \rho_s \cdot X_K}{X_F \cdot \rho \cdot Y_r} \quad \text{Equação 51}$$

k parâmetro do modelo de Lack citado por Sovová (1994).

Sovová (1994) obteve o perfil de concentração de soluto na fase sólida, expressos pelas Equações 52 (para,  $\tau < \tau_m$ ), 53 (para  $\tau_m \leq \tau < \tau_n$  e  $h > h_w$ ) e 54 (para,  $\tau_m \leq \tau < \tau_n$ ,  $h \leq h_w$  e  $\tau \geq \tau_n$ ).

$$r = r_0 - \tau e^{-h} \quad \text{Equação 52}$$

$$r = r_0 - \tau_m e^{-(h-h_w)} \quad \text{Equação 53}$$

$$r = \frac{r_0}{1 + (r_0 e^{k(\tau-\tau_m)} - 1) e^{-(r_0 k h)}} \quad \text{Equação 54}$$

$\tau_m$  parâmetro de tempo, adimensional, no início da extração de dentro das partículas;

$\tau$  parâmetro de tempo, adimensional;

$\tau_n$  parâmetro de tempo, adimensional, no final da extração do soluto de fácil acesso;

h coordenada adimensional definida pela Equação 38;

$h_w$  coordenada adimensional da posição entre extração rápida e lenta.

Onde,

$$\tau_m = r_0 - 1 \quad \text{Equação 55}$$

$$\tau_n = \tau_m + \frac{1}{K} \cdot \ln \frac{1 + \tau_m e^{(r_0 k A)}}{1 + \tau_m} \quad \text{Equação 56}$$

$$A = \frac{K_F \cdot a_0 \cdot H}{U} \quad \text{Equação 57}$$

A coordenada adimensional definida pela Equação 57;

H coordenada axial (L);

$r_0$  concentração inicial do soluto (adimensional).



Três equações são utilizadas por Sovová (1994) para descrever o perfil de concentração de soluto na fase sólida no processo de extração com fluido supercrítico. A Equação 52 representa a primeira etapa, onde há soluto de fácil acesso em todo o leito de extração.

A autora ainda afirma que o soluto de fácil acesso se esgota com entrada do solvente no tempo  $\tau_m$ , quando o período de transição entre a extração rápida e lenta começa, onde  $h_w$  é a coordenada que divide o leito de extração em duas seções. Em uma das seções o soluto facilmente acessível continua se esgotando em uma parte do leito, enquanto na outra seção do leito há a extração das partes internas das partículas (soluto de difícil acesso). A coordenada no limite entre as duas seções é expressa pela Equação 58 (para,  $\tau_m \leq \tau \leq \tau_n$ ). Quando a coordenada  $h$  atinge o fim do leito de extração ( $\tau \leq \tau_n$ ) não há mais soluto de fácil acesso em nenhuma seção do leito.

$$h_w = \frac{1}{k \cdot r_0} \cdot \ln \frac{r_0 \cdot e^{[k \cdot (\tau - \tau_m)] - 1}}{r_0 - 1} \quad \text{Equação 58}$$

Na sequência Sovová (1994) apresenta o perfil de concentração normalizado do solvente, apresentados pelas Equações 59 (para,  $\tau < \tau_m$ ), Equação 60 (para  $\tau_m \leq \tau < \tau_n$  e  $h > h_w$ ) e Equação 61 (para,  $\tau_m \leq \tau < \tau_n$ ,  $h \leq h_w$  e  $\tau \geq \tau_n$ ).

$$Y = e^{-h} \quad \text{Equação 59}$$

$$Y = \frac{\tau_m e^{(h-h_w)}}{r_0 - e^{k(\tau-\tau_m)}} \quad \text{Equação 60}$$

$$Y = \frac{r_0 e^{k(\tau-\tau_m)}}{e^{k(k r_0 h)} + r_0 e^{[k(\tau-\tau_m)]-1}} \quad \text{Equação 61}$$

Com o intuito da utilização do modelo em dados experimentais, as Equações do modelo devem ser funções de grandezas facilmente mensuráveis, como o tempo ou massa de extrato. Essas equações são propostas por Sovová (1994) e seguem a seguir, Equações 62 (para  $q < q_m$ ), Equação 63 (para  $q_m \leq q < q_n$ ) e Equação 64 (para  $q \geq q_n$ ).

$$Y = q Y_r (1 - e^{-h}) \quad \text{Equação 62}$$

$$Y = Y_r (q - q_m e^{h_w - Z}) \quad \text{Equação 63}$$

$$Y = X_0 - \frac{Y_r}{W} \ln \left( 1 + e^{\frac{W X_0}{Y_r} - 1} \right) e^{\frac{W(q_m - q) X_k}{X_0}} \quad \text{Equação 64}$$

$q$  quantidade específica do solvente, definida pela Equação 65;

W parâmetro referente ao período lento de extração;

$q_m$  quantidade específica de solvente do início da extração do interior das partículas;

Onde:

$$q = \frac{Q}{N} \quad \text{Equação 65}$$

$$q_m = \frac{X_0 - X_K}{Y_r E} \quad \text{Equação 66}$$

$$q_n = q_m + \frac{1}{W} \ln \frac{X_K + (X_0 - X_K) e^{\frac{WX_0}{Y_r}}}{X_0} \quad \text{Equação 67}$$

$$\frac{h_w}{E} = \frac{Y_r}{X_0 W} \ln \frac{X_0 e^{-W(q-q_m)} - X_K}{X_0 - X_R} \quad \text{Equação 68}$$

$q_n$  quantidade específica de solvente no final da extração do solvente de fácil acesso

O parâmetro E é diretamente proporcional ao coeficiente de transferência de massa do solvente e inversamente proporcional a taxa específica de fluxo do solvente ( $K_F$ ), como mostra a Equação 69.

$$E = \frac{K_F a_0 \rho}{\dot{q} (1 - \varepsilon) \rho_s} \quad \text{Equação 69}$$

E parâmetro do período de extração rápida;

$\dot{q}$  taxa do fluxo mássico do solvente, relacionado com N ( $T^{-1}$ ).

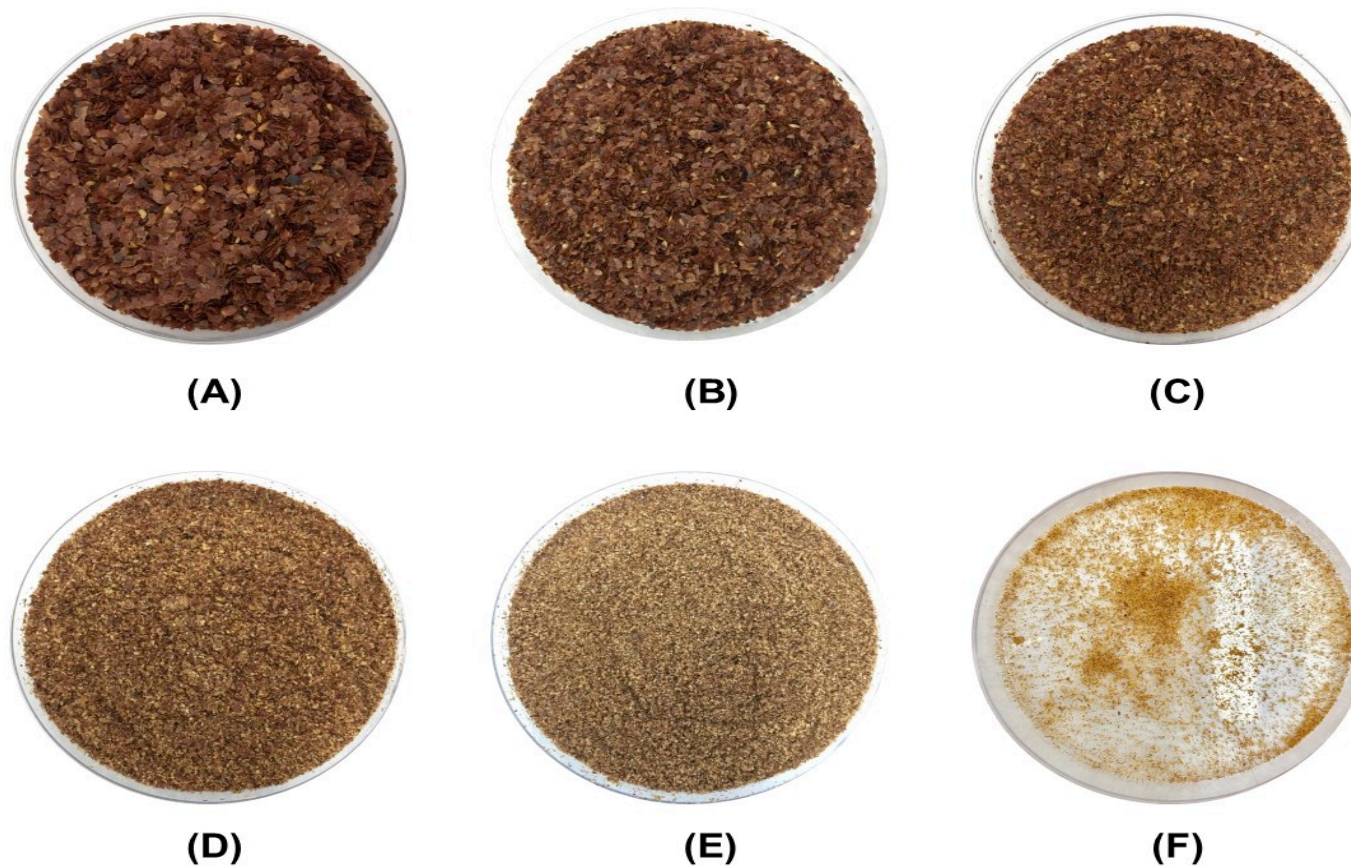
Similar ao parâmetro E, o parâmetro W é diretamente proporcional ao coeficiente de transferência de massa da fase sólida e inversamente proporcional à taxa específica de fluxo do solvente, como mostra a Equação 70.

$$W = \frac{K_S a_0}{\dot{q} (1 - \varepsilon)} = \frac{k E Y_R}{X_K} \quad \text{Equação 70}$$

W parâmetro do período de extração lenta

## ANEXO II – IMAGEM DAS FRAÇÕES OBTIDAS NO ENSAIO DE TAMANHO DE PARTÍCULA.

Figura 22 - Imagem das frações obtidas no ensaio de tamanho de partícula, sendo (a) fração retida no mesh 16; (b) fração retida no mesh 20; (c) fração retida no mesh 25; (d) fração retida no mesh 32; (e) fração retida no mesh 48; (f) fração retida no fundo.



### ANEXO III – DADOS EXPERIMENTAIS DAS CURVAS CINÉTICAS (SFE, PLE E SWE)

Tabela 22 - Massas de extrato, massa acumulada e o rendimento pontual (em cada tempo) do experimento cinético para o subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para extração SFE (20 MPa, 50 °C e 1 kgCO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup>).

Tempo (min)	Massa de extrato (g)	Massa acumulada (g)	Rendimento (%)
5	0,003	0,003	0,017
10	0,002	0,004	0,27
15	0,253	0,257	1,713
20	0,188	0,445	2,965
25	0,145	0,590	3,931
30	0,143	0,733	4,884
40	0,278	1,010	6,735
50	0,281	1,291	8,606
60	0,314	1,605	10,697
70	0,284	1,889	12,593
80	0,266	2,155	14,369
90	0,264	2,419	16,128
100	0,332	2,751	18,339
120	0,462	3,213	21,417
150	0,439	3,652	24,344
180	0,178	3,829	25,528
210	0,071	3,900	26,000
240	0,053	3,953	26,351
270	0,056	4,009	26,724
300	0,022	4,031	26,872
330	0,006	4,037	26,912
360	0,058	4,095	27,298

Fonte: Autor

Tabela 23 - Massas de extrato, massa acumulada e o rendimento pontual (em cada tempo) do experimento cinético para o subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para extração PLE (10 MPa, 80 °C e 3 mL etanol min<sup>-1</sup>).

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de extrato (g)</b>	<b>Massa acumulada (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
2	0,225	0,225	4,497
4	0,157	0,382	3,145
6	0,273	0,655	5,449
8	0,202	0,856	4,033
10	0,166	1,022	3,311
13	0,165	1,187	3,291
16	0,085	1,271	1,696
19	0,054	1,325	1,074
22	0,039	1,364	0,780
25	0,030	1,395	0,608
28	0,026	1,420	0,514
31	0,021	1,441	0,418
34	0,016	1,457	0,314
37	0,014	1,471	0,278
40	0,013	1,484	0,258
43	0,010	1,493	0,190
46	0,009	1,503	0,188
49	0,007	1,509	0,134
52	0,006	1,515	0,122
55	0,005	1,520	0,098
58	0,005	1,525	0,090
61	0,003	1,528	0,064

Fonte: Autor

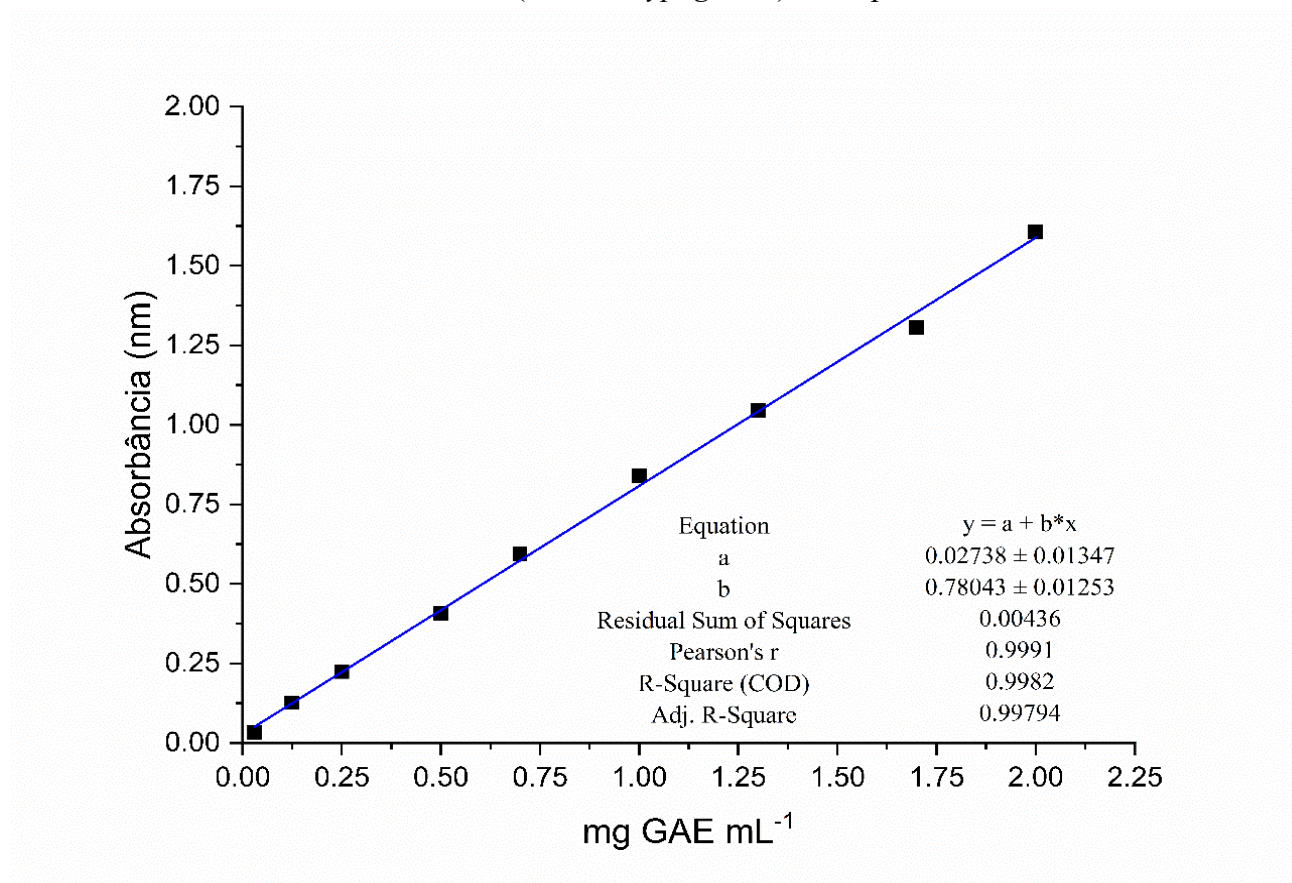
Tabela 24 - Massas de extrato, massa acumulada e o rendimento pontual (em cada tempo) do experimento cinético para o subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.) para a extração SWE (10 MPa, 160 °C e 3 mL de água min<sup>-1</sup>).

<b>Tempo (min)</b>	<b>Massa de extrato (g)</b>	<b>Massa acumulada (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
2	0,239	0,239	4,776
4	0,199	0,438	3,980
6	0,146	0,584	2,926
8	0,115	0,699	2,290
10	0,090	0,788	1,792
13	0,114	0,902	2,276
16	0,094	0,996	1,878
19	0,079	1,074	1,570
22	0,034	1,108	0,680
25	0,061	1,170	1,228
28	0,055	1,225	1,096
31	0,050	1,275	1,004
36	0,071	1,346	1,422
41	0,064	1,410	1,278
46	0,056	1,466	1,126
51	0,051	1,518	1,028
56	0,049	1,567	0,982
61	0,032	1,599	0,640
66	0,040	1,639	0,806
71	0,029	1,667	0,570
76	0,017	1,685	0,350
81	0,032	1,717	0,638
86	0,029	1,746	0,578
91	0,027	1,773	0,546
96	0,020	1,793	0,408

Fonte: Autor

## ANEXO IV – CURVAS ANALÍTICAS UTILIZADAS NA QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Figura 23 - Curva analítica de ácido gálico utilizada na quantificação de compostos fenólicos totais dos extratos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) no Capítulo III.



Fonte: Autor

Figura 24 - Curva analítica de Trolox (TE) utilizada no ensaio de capacidade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH dos extratos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) no Capítulo III.

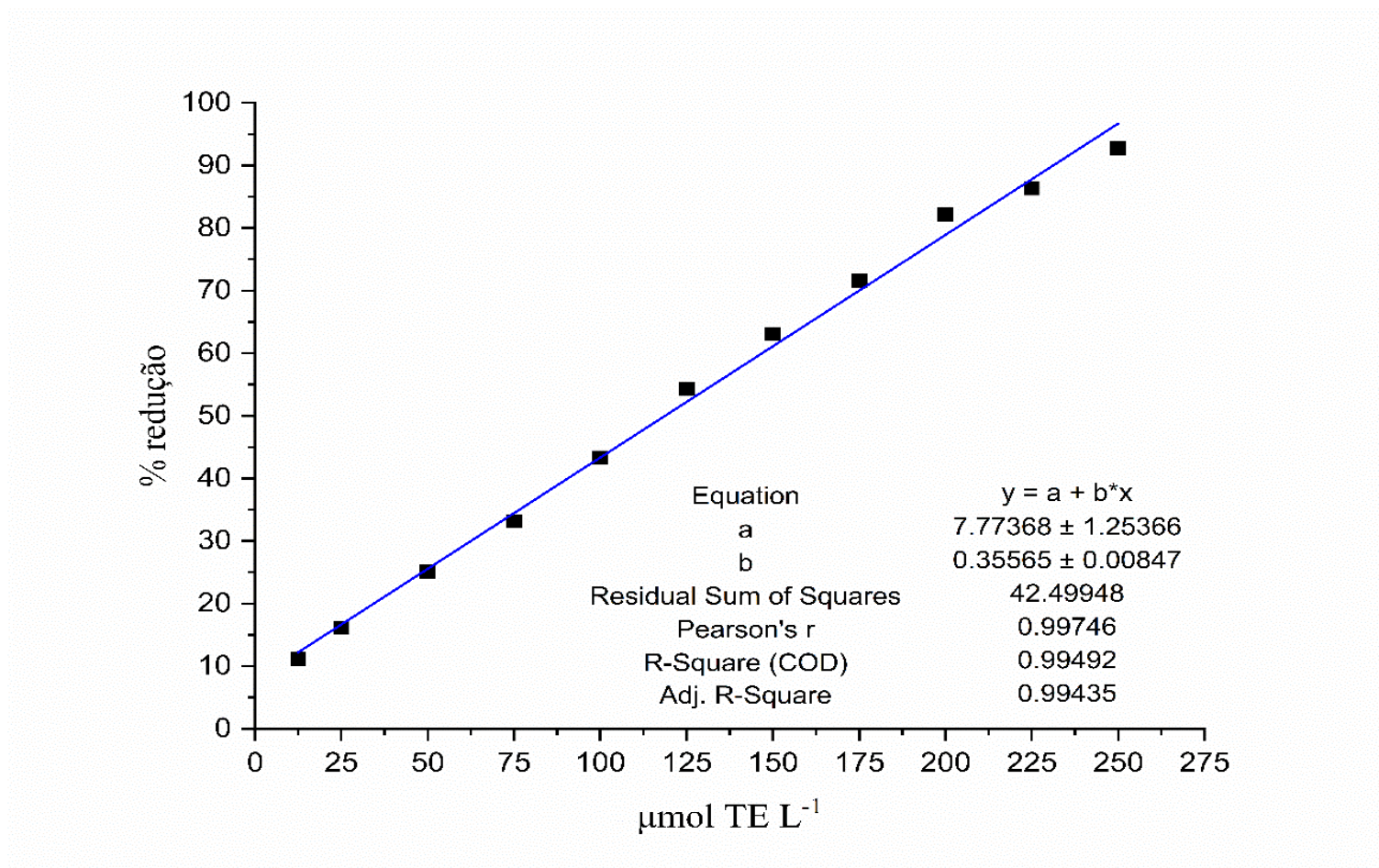
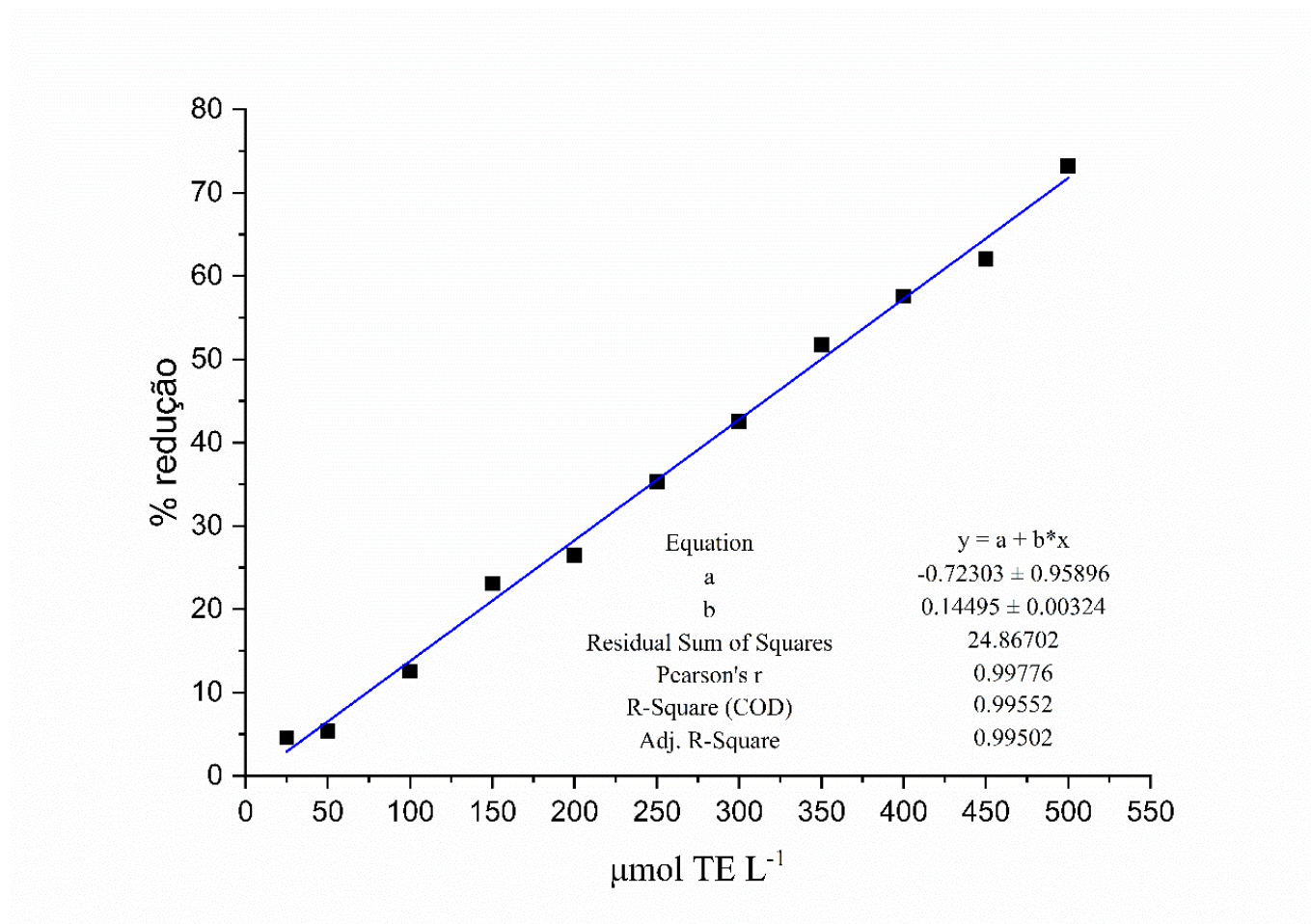


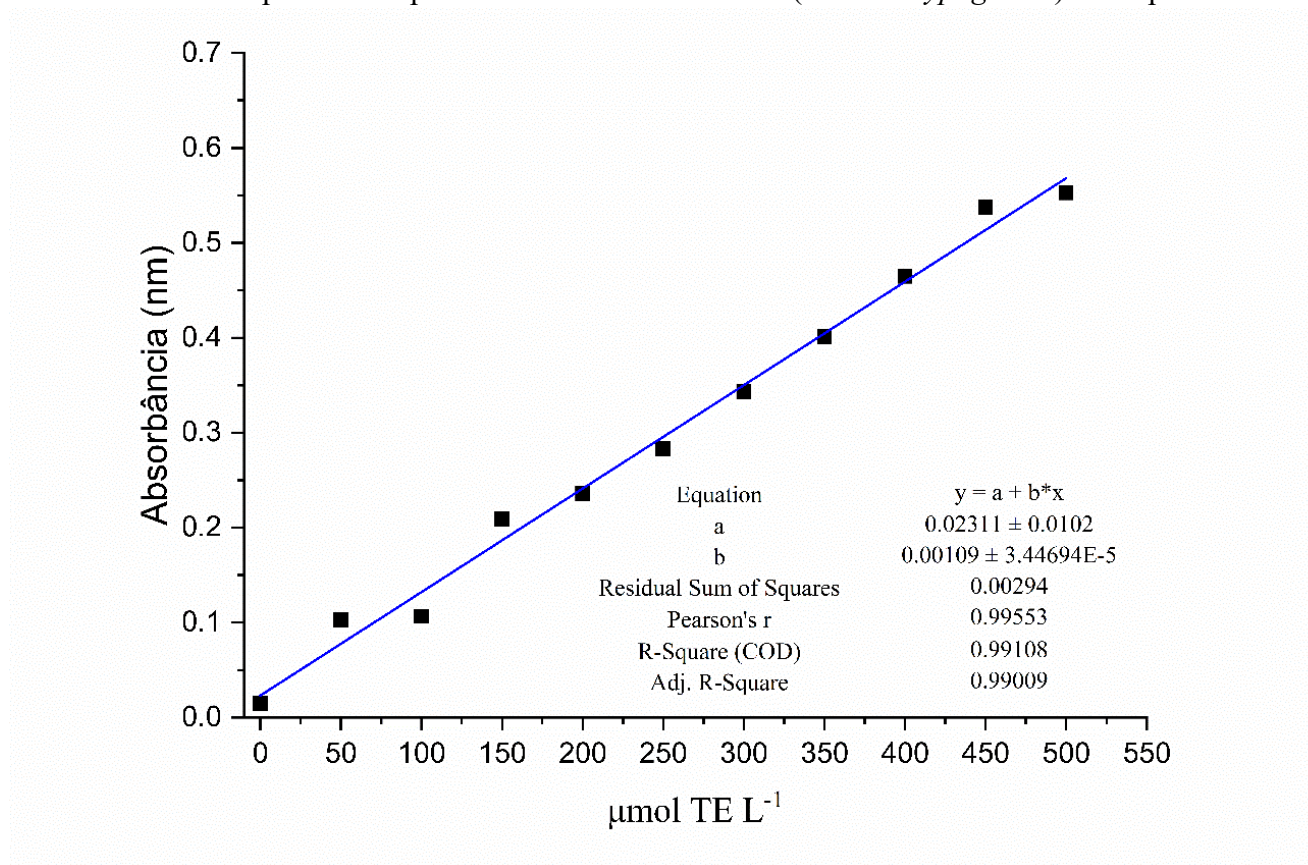


Figura 25 - Curva analítica de Trolox (TE) utilizada no ensaio de capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS dos extratos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) no Capítulo III.



Fonte: Autor

Figura 26 - Curva analítica de Trolox (TE) utilizada nos ensaios de capacidade antioxidante pelo método de redução do íon férrico (FRAP) dos extratos do subproduto do processamento do amendoim (*Arachis hypogea* L.) no Capítulo III.



Fonte: Autor

## ANEXO V – TEMPO DE RETENÇÃO DOS COMPOSTOS OBTIDOS NOS ENSAIOS DE CG-MS

Tabela 25 - Tempo de retenção (experimentais e encontrados na literatura) e índice de similaridade com a biblioteca NIST 11 dos picos obtidos nas análises de CG-MS.

Pico	Composto identificado	Experimental						Literatura		
		SOX1		SFE1		SFE2		Óleo de amendoim	Manteiga de amendoim	Óleo de amendoim
		Tempo de retenção (min)	*Índice de Similaridade (%)	Tempo de retenção (min)	*Índice de Similaridade (%)	Tempo de retenção (min)	*Índice de Similaridade (%)	<sup>1</sup> Tempo de retenção (min)	<sup>2</sup> Tempo de retenção (min)	<sup>3</sup> Tempo de retenção (min)
1	C16:0	35,49	99	35,50	99	35,51	99	32,97	32,95	34,12
2	C18:2	39,41	99	39,41	99	39,42	99	43,14	43,13	42,52
3	C18:1	39,65	99	39,64	99	39,69	99	41,36	41,07	40,54
4	C18:0	39,71	99	40,15	99	40,16	99	39,92	39,9	39,38
5	C20:1	40,15	99	43,88	99	43,88	99	47,5	47,48	48,05
6	C20:0	43,88	99	44,44	99	44,43	99	46,38	46,36	45,92
7	C22:0	44,44	99	48,39	99	48,40	99	52,36	52,35	54,22
8	C24:0	48,39	99	52,07	99	52,07	99	57,91	57,89	66,09

\*Valor referente a precisão do resultado, quanto mais próximo de 100%, apresenta maior confiabilidade entre a estrutura do ácido graxo encontrado e a sua identificação pela biblioteca NIST11

<sup>1</sup>Negoita et al. (2017)

<sup>2</sup>Negoita et al. (2018)

<sup>3</sup>Zhang (2019)

Fonte: Autor

