



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

CAMILA MOTA MARTINS

ESTUDO DA CINÉTICA DE SECAGEM E EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS PRESENTES EM *Egletes viscosa* Less (macela-da-terra)

FORTALEZA

2018

CAMILA MOTA MARTINS

**ESTUDO DA CINÉTICA DE SECAGEM E EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS PRESENTES EM *Egletes viscosa* Less (macela-da-terra)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química. Área de Concentração: Processos Químicos e Bioquímicos

Orientador: Dr. Edy Sousa de Brito

Coorientador: Dr. Kirley Marques Canuto

FORTALEZA

2018

CAMILA MOTA MARTINS

**ESTUDO DA CINÉTICA DE SECAGEM E EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS PRESENTES EM *Egletes viscosa* Less (macela-da-terra)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Química. Área de Concentração: Processos Químicos e Bioquímicos

Orientador: Dr. Edy Sousa de Brito

Coorientador: Dr. Kirley Marques Canuto

Data da aprovação: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Dr. Edy Sousa de Brito (Orientador)

Embrapa Agroindústria Tropical

Prof. Dr. Fabiano André Narciso Fernandes

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Maria Correia da Costa

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dedico este trabalho à minha família, amor
mais sincero que Deus me deu.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado forças e coragem para realizar e concluir este trabalho.

Ao meu orientador, Edy de Brito, e ao coorientador, Kirley Canuto, pela atenção, incentivo, paciência, conhecimentos transmitidos e pela confiança em mim depositada para a realização deste trabalho.

À minha família, por ter me apoiado e incentivado a seguir essa jornada, mesmo nos momentos mais difíceis. Em especial a minha mãe, Maria Francisca, que é um exemplo de garra e determinação, ao meu pai, Manoel, que é um porto seguro para todas as horas e ao meu irmão, Felipe, em quem sempre me inspirei a seguir os passos.

Ao meu namorado, Renato, pela força, incentivo e paciência comigo durante todos esses anos e à sua família, em especial, minha sogra, Emília, por não ter medido esforços para os meus estudos desde a época de colégio e pela amizade e seu amor de mãe.

À toda a equipe do Laboratório de Análise e Desenvolvimento de Processos, Virgínia, Dayanne e Raquel, e, em especial, ao professor Dr. Fabiano André pela paciência, disponibilidade e conhecimentos transmitidos.

Aos meus amigos de laboratório, Marcelo, Liana, Oiram, Fátima, Kaline, Régis, Jhony, Erbênia e, em especial, a Carol, por terem me guiado e ajudado todos os dias, deixando o nosso ambiente de pesquisa leve e agradável de se trabalhar.

A toda a equipe técnica do Laboratório Multiusuário Química de Produtos Naturais da Embrapa pelo apoio e conhecimentos adquiridos.

Às minhas amigas, Cleici, Fabi, Nara e Larissa Melo que sempre estiveram ao meu lado nos momentos bons e ruins.

A todos os meus amigos da turma de mestrado, em especial Sarah, Bruna, Virgínia, Fernanda e Ailton, por não terem desistido e por me acompanharem até o fim dessa jornada.

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da UFC e aos professores pela contribuição e conhecimentos transmitidos.

À FUNCAP e à Embrapa Agroindústria Tropical pelo apoio financeiro e tecnológico.

A todos os meus familiares e amigos, que embora não tenham sido mencionados individualmente, tem toda a minha gratidão.

Obrigada!

“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje, mas continue em frente de qualquer jeito.”

Martin Luther King

RESUMO

A *Egletes viscosa* (Asteraceae), herbácea popularmente conhecida como “macela-da-terra”, é utilizada na medicina tradicional brasileira devido às propriedades terapêuticas dos seus capítulos florais, os quais contêm ternatina (1), lactona do ácido hawtriwaico (2) e ácido centipédico (3) como princípios ativos. O objetivo do presente trabalho foi determinar as melhores condições de processamento para a obtenção dessas substâncias. Nesse contexto, foi realizado um estudo da cinética de secagem e de extração com solvente líquido pressurizado (PLE). A secagem foi efetuada em estufa de circulação e renovação de ar a três temperaturas (50, 60 e 70 °C), apresentando 16,5 % de umidade final nos capítulos florais. A curva de secagem experimental mostrou apenas um período de diminuição da umidade e redução do tempo com o aumento das temperaturas testadas. O material seco foi extraído por infusão em água, que é a forma utilizada popularmente para fins medicinais, e os compostos do chá foram quantificados em UPLC/QDA-SIM. Não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as concentrações dos compostos bioativos nas diferentes temperaturas testadas, revelando que, em menor tempo de processo, os capítulos florais podem ser secos a temperaturas elevadas (70 °C) sem que sua qualidade seja alterada. O modelo de secagem gerado a partir da segunda Lei de Fick apresentou difusividade efetiva de umidade (Def_f) entre $5,55 \times 10^{-9}$ e $1,72 \times 10^{-9}$ m²/s e energia de ativação de 45,14 KJ/mol. Este, embora seja simplista para a complexa estrutura do material estudado, foi considerado satisfatório. Para os experimentos de extração foram realizados testes preliminares que mostraram a eficiência da PLE e do solvente etanol. Em seguida, a otimização da extração foi efetuada a partir de um planejamento experimental do tipo composto central, tendo como variáveis independentes temperatura (70-130 °C) e proporção dos solventes etanol/água (20-80 %). Os resultados das extrações revelaram que a temperatura, o tempo de extração e as diferentes proporções dos solventes etanol/água foram significativas para a extração dos compostos (1-3). A melhor condição operacional obtida com a otimização da extração em PLE foi com 92,4 % de etanol, 100 °C, um ciclo e 15 minutos de extração. A extração em PLE mostrou-se promissora, sendo possível estabelecer parâmetros operacionais para uma máxima extração dos compostos de interesse, com exceção da ternatina que atingiu maior concentração na extração em Soxhlet.

Palavras chaves: Asteraceae. Desejabilidade. Metodologia de Superfície de Resposta. PLE. Soxhlet

ABSTRACT

Egletes viscosa (Asteraceae), herbaceous popularly known as "macela-da-terra", is used by the Brazilian traditional medicine due to the therapeutic properties of its flower buds, which contain ternatin (**1**), hawtriwaic acid lactone (**2**) and centipedic acid (**3**) as active principles. The objective of the present study was to determine the best processing conditions to obtain these substances. In this context, a study of kinetic drying and extraction with pressurized liquid solvent (PLE) was made. The drying was carried out in a circulation and air renovation oven with three temperatures (50, 60 and 70 ° C), presenting a final moisture content of 16.5% in flower buds. The experimental drying curve showed only a period of humidity drop and time reduction with the increase of the tested temperatures. The dry material was extracted by water infusion, which is the form popularly used for medicinal purposes, and the tea compounds were quantified by UPLC/QDA-SIM. There was no significant difference ($p \leq 0.05$) between the concentrations of the bioactive compounds at the different tested temperatures, showing that the flower buds can be dried at high temperatures (70 ° C) without changing their quality. The drying model generated from the Fick's second law presented effective moisture diffusivity (D_{eff}) between 5.55×10^{-9} and 1.72×10^{-9} m² / s and activation energy of 45.14 KJ / mol. Although the model is simplistic for the complex structure of the material surface, it was considered satisfactory. For the extraction experiments, preliminary tests were carried out, which showed the efficiency of the PLE and the solvent ethanol. Then, the extraction's optimization was done from an experimental design of the central composite type, having as independent variables temperature (70-130 °C) and proportion of solvent ethanol/water (20-80 %). The results of the extractions showed that the temperature, the extraction time and the proportion of the ethanol/water solvents were significant for the extraction of the compounds (**1-3**). The best operational condition obtained with the optimization of the extraction by PLE was with 92.4 % ethanol, 100 °C, one cycle and 15 min of extraction. The extraction by PLE seemed to be promising, opening the possibility to establish operational parameters for a maximum extraction of the interest compounds, with the exception of the ternatin that reached the highest concentration in Soxhlet extraction.

Keywords: Asteraceae. Desirability. Response Surface Methodology. PLE. Soxhlet.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- <i>Egletes viscosa</i> Less.....	4
Figura 2 – Capítulos florais secos de <i>E. viscosa</i>	4
Figura 3 – Estrutura molecular da ternatina.	6
Figura 4 – Estrutura molecular da lactona do ácido hawtriwaico.	7
Figura 5 – Estrutura molecular do ácido centipédico	7
Figura 6 - Fluxograma das etapas do estudo do processamento de capítulos florais de <i>E. viscosa</i>	14
Figura 7- Etapas do processo de secagem dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i> colhidos no campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical.	15
Figura 8 – Capítulo floral de <i>E. viscosa</i> in natura observado em lupa digital (ampliação 10X).	17
Figura 9 – Gráfico da relação entre o tempo e a razão de umidade dos capítulos florais de <i>E.</i> <i>viscosa</i> em temperaturas de 50 a 70°C.	24
Figura 10 – Gráfico da relação entre a razão de umidade (MR) experimental e a prevista pelo modelo, para a secagem de capítulos florais de <i>E. viscosa</i> em temperaturas de 50 a 70°C.....	25
Figura 11 - Estrutura externa dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i> , antes (A) e depois (B) do processo de secagem.....	25
Figura 12– Relação do tipo Arrhenius entre a difusividade efetiva de umidade e a temperatura para secagem de capítulos florais de <i>E. viscosa</i>	26
Figura 13 – Cromatogramas dos extratos clorofórmicos, obtidos por extração em PLE, dos capítulos florais inteiros e moídos de <i>E. viscosa</i>	30
Figura 14 – Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos do rendimento do extrato, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).	32
Figura 15 – Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos de ternatina, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).....	33
Figura 16– Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos de lactona do ácido hawtriwaico, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).	34

Figura 17 – Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos de ácido centipédico, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).	35
Figura 18 – Gráfico da função desejabilidade para o modelo de composto central aplicado para extração dos compostos bioativos de <i>E. viscosa</i> em PLE.	37
Figura 19 – Superfície de resposta para a função desejabilidade desenvolvida para o modelo de composto central aplicado para a extração dos compostos bioativos de <i>E. viscosa</i> em PLE...	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade farmacológica da ternatina.	6
Tabela 2 – Níveis das variáveis independentes nas escalas codificada e real, utilizados no planejamento experimental para a otimização da extração em PLE.	20
Tabela 3 – Identificação dos compostos bioativos de <i>E. viscosa</i> por UPLC-QTOF e compostos monitorados no UPLC/QDA no modo <i>SIM</i>	23
Tabela 4 – Difusividades efetivas de umidade (D_{eff}) e energia de ativação (E_a) dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i> a temperaturas de 50 a 70°C.	24
Tabela 5 – Análise estatística da concentração dos compostos bioativos extraídos do chá dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i> após o processo de secagem, ao nível de 95% de confiança. ..	27
Tabela 6 – Concentração dos compostos bioativos extraídos do chá dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i> após o processo de secagem em temperaturas de 50 a 70°C.	27
Tabela 7 – Rendimento do extrato bruto seco obtido na primeira etapa dos testes preliminares das extrações dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i>	28
Tabela 8 – Rendimento do extrato bruto seco obtido na segunda etapa dos testes preliminares das extrações dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i>	28
Tabela 9 – Resultados obtidos para as variáveis resposta rendimento de extrato e concentração dos compostos ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico a partir da MSR aplicada para a extração em PLE.	31
Tabela 10 – ANOVA das equações quadráticas para a extração dos compostos bioativos de <i>E. viscosa</i> em extrator líquido pressurizado (PLE).	36
Tabela 11 – Valores das concentrações dos compostos bioativos de <i>E. viscosa</i> após otimização do planejamento de composto central aplicado para a extração em PLE.	38
Tabela 12 - Análise estatística da concentração dos compostos bioativos dos capítulos florais de <i>E. viscosa</i> após otimização do planejamento de composto central aplicado para a extração em PLE.	38
Tabela 13 – Concentração dos compostos bioativos de <i>E. viscosa</i> após extração em PLE com número de ciclos e tempos de extração diferentes.	39
Tabela 14 – Comparação entre as técnicas de extração em Soxhlet e PLE com os solventes etanol PA e 92,4 % etanol/água (v/v), respectivamente para a obtenção dos compostos bioativos de <i>E. viscosa</i>	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	FAMÍLIA ASTERACEAE	3
2.2	<i>Egletes viscosa</i> Less (MACELA-DA-TERRA)	3
2.2.1	PRINCIPAIS COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES EM <i>E. viscosa</i>	5
2.3	EXTRATO DE <i>E. viscosa</i>: OPORTUNIDADE DE MERCADO E APLICAÇÕES	7
2.4	SECAGEM DE PLANTAS MEDICINAIS	8
2.4.1	APLICAÇÃO DA SECAGEM EM PLANTAS MEDICINAIS	9
2.5	EXTRAÇÃO DE PRODUTOS NATURAIS	9
2.5.1	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO	9
2.6	METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR)	12
3	MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1	MATERIAL BOTÂNICO	13
3.2	ETAPAS DO ESTUDO	13
3.3	SECAGEM	15
3.3.1	CINÉTICA DE SECAGEM	16
3.3.2	DIFUSIVIDADE EFETIVA DA UMIDADE E ENERGIA DE ATIVAÇÃO	16
3.3.3	QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS APÓS PROCESSO DE SECAGEM	17
3.4	TESTES PRELIMINARES DE EXTRAÇÃO	18
3.4.1	EXTRAÇÃO EM APARELHO SOXHLET	18
3.4.2	EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO	19
3.4.3	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)	19
3.5	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO EM PLE UTILIZANDO A METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR)	20
3.6	DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	21
3.6.1	RENDIMENTO DOS TESTES PRELIMINARES DAS EXTRAÇÕES	21
3.6.2	ESPECTROMETRIA DE MASSAS	21
3.6.3	UPLC/QDA-SIM	22
3.6.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1	SECAGEM	23
4.1.1	EFEITO DA SECAGEM NA CONCENTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE <i>E. viscosa</i>	26

4.2 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DE <i>E. VISCOSA</i>	27
4.2.1 TESTES PRELIMINARES DE EXTRAÇÃO	27
4.2.2 OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO EM PLE DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE <i>E. VISCOSA</i> POR MEIO DE MSR	30
5 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS	42
APÊNDICE A - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DA PRIMEIRA ETAPA DE EXTRAÇÃO DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE <i>E. VISCOSA</i> EM APARELHO SOXHLET	50
APÊNDICE B - FLUXOGRAMA DA SEGUNDA ETAPA DAS EXTRAÇÕES DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE <i>E. VISCOSA</i> EM APARELHO SOXHLET	51
APÊNDICE C - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DA PRIMEIRA ETAPA DE EXTRAÇÃO DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE <i>E. VISCOSA</i> EM EXTRATOR DE SOLVENTE LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)	52
APÊNDICE D - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DA SEGUNDA ETAPA DA EXTRAÇÃO DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE <i>E. VISCOSA</i> EM EXTRATOR DE SOLVENTE LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)	53
APÊNDICE E – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA OBTIDO PARA A VARIÁVEL DEPENDENTE TERNATINA, GERADO A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO PARA A EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)	54
APÊNDICE F – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA OBTIDO PARA A VARIÁVEL DEPENDENTE LACTONA DO ÁCIDO HAWTRIWAICO, GERADO A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO PARA A EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)	55
APÊNDICE G – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA OBTIDO PARA A VARIÁVEL DEPENDENTE ÁCIDO CENTIPÉDICO DO ÁCIDO HAWTRIWAICO, GERADO A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO PARA A EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE)	56

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados, desde a antiguidade, como fonte segura e eficaz no tratamento contra diversas patologias (TIWARI, 2008). Com a descoberta das propriedades medicinais das plantas, estas se tornaram uma fonte útil de compostos com papéis importantes na prevenção e no tratamento de doenças, conseqüentemente na melhoria da saúde da população. O uso ancestral de ervas pode ser considerado como a base para a utilização de moléculas naturalmente bioativas (VIEIRA DA SILVA; BARREIRA; OLIVEIRA, 2016).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) prevê que 80% da população mundial depende da medicina tradicional como cuidados de saúde primários, principalmente com o uso de extratos vegetais e seus compostos bioativos (AZMIR *et al.*, 2013). O Brasil, devido ao clima ideal para muitas espécies de plantas, é o país mais rico do mundo em termos de diversidade vegetal conhecida para a ciência (FORZZA *et al.*, 2012). Mais de 55.000 espécies foram catalogadas, no Brasil, de um total de espécies mundial, estimado entre 350.000 e 550.000 (DE AQUINO *et al.*, 2015).

A região Nordeste do Brasil abriga diversas espécies medicinais. Entre as plantas que despertam grande interesse dessa região, encontra-se a *Egletes viscosa* Less, herbácea pertencente à família Asteraceae, conhecida popularmente como “macela-da-terra”. Suas ações gastroprotetora, anti-inflamatória, antiviral, antidiarréica, relaxante muscular e antiespasmódica (DE AQUINO *et al.*, 2015) são comprovadas cientificamente devido à presença de três compostos bioativos principais: ternatina, ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico. É importante a realização de estudos que definam parâmetros de processo adequados para a obtenção desses compostos.

A fase inicial de preparação do produto, em muitos processos industriais, é a extração, operação química que representa a chave para a recuperação e purificação de compostos ativos contidos nos mais variados tipos de matrizes vegetais (WANG *et al.*, 2016). De acordo com NAVIGLIO *et al.* (2007), o setor de plantas medicinais é o que mais se destaca na utilização do processo de extração, dos quais são extraídas as substâncias ativas com as propriedades farmacológicas para o tratamento de diversas patologias humanas.

Atualmente, as indústrias de alimentos, farmacêuticos, cosméticos e nutracêuticos que utilizam processos de extração, tais como maceração, extração com solvente, vapor ou hidrodestilação e prensagem a frio (CHEMAT *et al.*, 2017), vêm buscando métodos mais modernos de extração, que visam reduzir os custos com o processo. Segundo CHEMAT *et al.* (2015), para que seja realizado todo o processamento de produtos naturais por meio de métodos convencionais de extração, 10% dos gastos são com energia e 90% com solvente.

Portanto, novas técnicas, como a extração com fluido supercrítico e a extração com líquido pressurizado, vem sendo estudadas e comparadas a métodos tradicionais de extração, como Soxhlet e hidrodestilação, com o objetivo principal de reduzir o consumo de solventes orgânicos, o tempo de processo e conseqüentemente os custos operacionais. Além da escolha da técnica, outros fatores devem ser levados em consideração para a eficiência da extração, como a seleção do solvente, que deve ser compatível com a matriz que está sendo extraída, a temperatura e o tempo de extração (BARBOSA *et al.*, 2014).

Outra etapa fundamental no processamento de produtos naturais é a secagem, que reduz as perdas pós-colheita, inibe o crescimento microbiano, prolonga a vida útil do vegetal e dos seus subprodutos, reduz o peso e o volume para facilitar o manuseio e o transporte do produto acabado (FUDHOLI *et al.*, 2010). Nesse processo ocorre a interação do produto com o ar de secagem, sob temperaturas elevadas, provocando o aumento da pressão parcial de vapor no produto e causando a movimentação da umidade do interior para a superfície externa, até que ocorra a saturação da umidade (GONELI *et al.*, 2014a; BHARDWAJ *et al.*, 2017).

Portanto, o estudo de secagem serve para determinar parâmetros operacionais, como a temperatura e a velocidade do ar de secagem, de forma que as características físico-químicas, visuais e a qualidade medicinal das plantas não sejam afetadas negativamente (PURANIK *et al.*, 2012) após este processo. Fatores como a difusividade efetiva de umidade e a energia de ativação, que estão relacionadas com a temperatura, também são avaliados nesse estudo de secagem. Em altas temperaturas, devido à elevada energia de aquecimento no material vegetal e à redução da viscosidade da água, a movimentação do fluido intensifica-se através das células do material vegetal, aumentando a difusão deste para fora da matriz celular (GONELI *et al.*, 2014b; MGHAZLI *et al.*, 2017).

O estudo da cinética de secagem e a extração de plantas medicinais tem sido relatado para diversas espécies como folhas de *Boeravia diffusa* L. e *Andrographis paniculata* (PURANIK *et al.*, 2012), folhas de erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) (ARGYROPOULOS; MÜLLER, 2014), folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) (MGHAZLI *et al.*, 2017), raízes de *Valeriana Jatamansi* (BHARDWAJ *et al.*, 2017), flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.) (AMER; GOTTSCHALK; HOSSAIN, 2018) e folhas de quebra-pedra *Phyllanthus amarus* e *Phyllanthus niruri* (SOUSA *et al.*, 2017).

Entretanto, não há relatos na literatura do estudo desses processos com os capítulos florais de *E. viscosa* para a obtenção dos seus compostos bioativos. A eficácia para a obtenção desses compostos é influenciada pelos parâmetros de processos como a secagem e a extração.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo geral determinar as melhores condições de processamento para a obtenção dos compostos bioativos de *Egletes viscosa* Less. Outros objetivos foram avaliar a temperatura ideal de secagem dos capítulos florais, a influência de técnicas de extração convencionais e atuais, e o uso de diferentes solventes e sua combinação com água para a obtenção do máximo teor dos compostos bioativos ternatina, ácido centipédico e lactona do ácido hatriwaico presentes em *E. viscosa*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Família Asteraceae

A Asteraceae (Compositae), terceira maior família do grupo das Angiospermas, possui cerca de 24.000 espécies, pertencentes a 1.700 gêneros distribuídos em 17 tribos e três subfamílias (PETACCI *et al.*, 2012). São plantas de aspecto variado, incluindo principalmente pequenas ervas ou arbustos e raramente árvores. Os gêneros desta família possuem distribuição nos grandes centros urbanos e são comumente encontrados nos trópicos, sub-trópicos e regiões temperadas (HATTORI; NAKAJIMA, 2008).

Plantas da família Asteraceae são extensivamente estudadas quanto a sua composição química e atividade biológica, sendo alvo principal de pesquisas ontogenéticas, proporcionando o desenvolvimento de novos fármacos, inseticidas, entre outros (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005). Dentre as inúmeras espécies de plantas que compõem a família Asteraceae uma das mais utilizadas na medicina popular nordestina é a *Egletes viscosa* Less, popularmente conhecida como “macela” ou “marcela” e às vezes como “macela-da-terra”, para diferenciá-la da asterácea *Achryrocline saturoides* (Lam.) DC. comum no Sul e Sudeste do Brasil, onde é conhecida como “macela” ou “marcela” (BATISTA *et al.*, 2012).

2.2 *Egletes viscosa* Less (macela-da-terra)

A *E. viscosa* (Figura 1), comumente encontrada no Nordeste do Brasil, cresce facilmente nas planícies de inundação, em locais perto das margens das lagoas e em córregos desta região (BATISTA *et al.*, 2012). Segundo GUEDES *et al.*, 2008, essa planta é uma pequena erva silvestre anual, amarga, aromática, composta de folhas pinatífidas de 2 a 5 cm de comprimento no ápice dos ramos, involúcro largo campanulado, brácteas pilosas, lanceoladas e agudas e capítulos isolados no ápice dos ramos.

Entre as partes de *E. viscosa*, os botões de flores secos (Figura 2), conhecidos como capítulos florais ou popularmente como “cabecinhas”, são amplamente utilizados na medicina

tradicional brasileira, sendo comercializados em supermercados ou lojas de produtos naturais. Sua popularidade deve-se a ação dos compostos bioativos, que possuem atividade gastroprotetora, anti-inflamatória, antiviral, antidiarréica, relaxante muscular e antiespasmódica (DE AQUINO *et al.*, 2015).

Figura 1- *Egletes viscosa* Less



Fonte: Acervo Dra. Rita de Cassia – Centro Nacional de Pesquisa Agroindústria Tropical, 2016

Figura 2 – Capítulos florais secos de *E. viscosa*



Fonte: Autor, 2018.

2.2.1 Principais compostos bioativos presentes em *E. viscosa*

Os compostos bioativos são metabólitos secundários associados às estratégias de defesa da planta, interferindo no aumento da sua capacidade global de sobrevivência e na superação de desafios locais, auxiliando na interação destas com o meio ambiente. Esses compostos provocam efeitos farmacológicos ou toxicológicos em humanos e animais, e podem ser identificados e caracterizados a partir de extratos de raízes, caule, casca, folhas, flores, frutos e sementes (BERNHOF, 2010; AZMIR *et al.*, 2013).

De acordo com a rota biossintética, os metabólitos secundários das plantas são classificados basicamente em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (LORDÊLO CARDOSO SILVA *et al.*, 2010).

Os compostos fenólicos apresentam na sua estrutura química hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, o que confere as plantas poder antioxidante (ANGELO; JORGE, 2007). Dentro desse grupo encontram-se flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (TIAN *et al.*, 2017).

Os terpenos, também chamados de terpenóides ou isoprenóides, constituem um dos principais compostos do metabolismo secundário das plantas (CHEEMA; FARALDOS; MAILLE, 2017). São hidrocarbonetos, formados a partir de unidades de isopreno C₅, classificados em hemiterpeno (C₅), monoterpeno (C₁₀), sesquiterpeno (C₁₅), diterpeno (C₂₀), sesterterpeno (C₂₅), triterpeno (C₃₀) e tetraterpeno (C₄₀) (MEWALAL *et al.*, 2017).

Diterpenos representam uma classe de produtos naturais que possuem ação anti-inflamatória, antitumoral, antimicrobiana, antiespasmódica, citotóxica e propriedades gastroprotetoras (AMBROSIO *et al.*, 2006).

Em processos de extração de produtos naturais que objetivam identificar e quantificar compostos bioativos, parâmetros como a temperatura e o solvente extrator devem ser levados em consideração. Já que o uso da temperatura torna as paredes da matriz celular permeáveis, aumentando a solubilidade das substâncias e a difusão destas no solvente (BARBOSA *et al.*, 2014). Devido a mistura dessas substâncias nas diferentes matrizes vegetais, a escolha do solvente dependerá do material estudado. Para a extração de produtos naturais, os solventes metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, dimetilformaldeído e suas combinações são os mais utilizados (DE SOUZA-SARTORI *et al.*, 2013).

Segundo BATISTA *et al.* (2012), vários compostos bioativos, como flavonoides e terpenóides foram relatados na *E. viscosa*, entre eles a ternatina, a lactona do ácido hawtriwaico e o ácido centipédico.

2.2.1.1 Ternatina

A ternatina (Figura 3) (TRT), 4',5-dihidroxi-3,3',7,8-tetrametoxiflavona, é um flavonoide encontrado em *E. viscosa* (MELO *et al.*, 2013), que possui diversas propriedades farmacológicas comprovadas (Tabela 1).

Figura 3 – Estrutura molecular da ternatina.

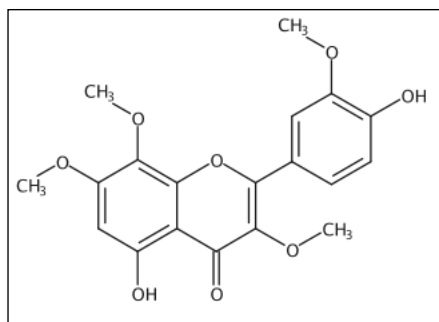


Tabela 1 – Atividade farmacológica da ternatina.

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	REFERÊNCIA
Anti-anafilática	SOUZA, RAO, SILVIEIRA, 1992
Anti-inflamatória	SOUZA, RAO, VIEIRA, 1992; VIEIRA <i>et al.</i> , 2004
Hepatoprotetora	RAO <i>et al.</i> , 1994; SOUZA <i>et al.</i> , 1997
Gastroprotetora	LIMA <i>et al.</i> , 1996
Inibição a peroxidação lipídica	SOUZA <i>et al.</i> , 1999
Antiproliferativa de linhagens de células cancerosas humanas <i>in vitro</i>	PESSOA <i>et al.</i> , 2000
Antioxidante	GUIMARÃES <i>et al.</i> , 2011
Antioxidativa em torção/destorção induzida em testículos de ratos	GUIMARÃES <i>et al.</i> , 2011
Redução de estresse oxidativo em ratos hepatectomizados	MELO <i>et al.</i> , 2013

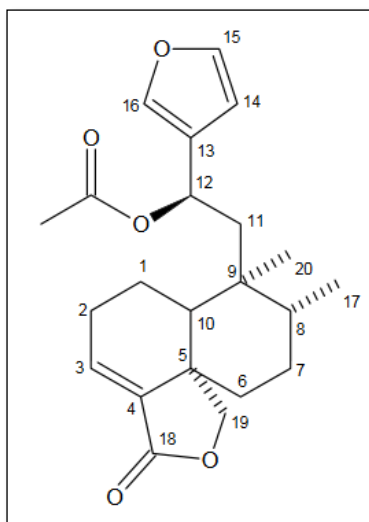
Fonte: Autor, 2018.

2.2.1.2 Lactona do ácido hawtriwaico

A lactona do ácido hawtriwaico (Figura 4), diterpeno caracterizado como um dos componentes majoritários presentes nos capítulos florais da *E. viscosa* (CALOU *et al.*, 2008) exhibe atividade antiespasmódica (LIMA *et al.*, 1996), gastroprotetora e antinociceptiva

(GUEDES *et al.*, 2002), além de atividade antiproliferativa de linhagens de células cancerosas humanas *in vitro*, com inibição da síntese de DNA (PESSOA *et al.*, 2000).

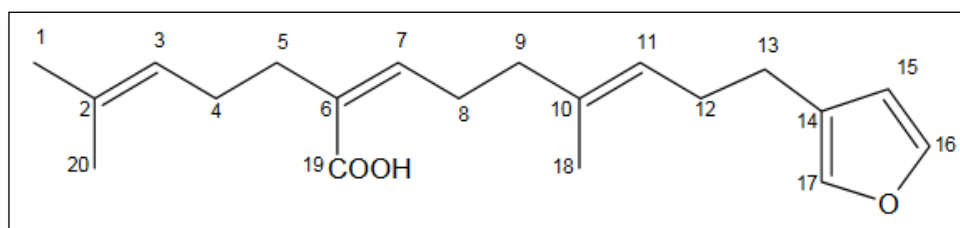
Figura 4 – Estrutura molecular da lactona do ácido hawtriwaico.



2.2.1.3 Ácido centipédico

O Ácido centipédico (Figura 5), caracterizado como sendo de cadeia linear e acíclica, é um diterpeno isolado de *E. viscosa* (CALOU *et al.*, 2008), que apresenta várias propriedades farmacológicas tais como: antiespasmódica (LIMA *et al.*, 1996), anti-inflamatória (GUEDES *et al.*, 2002; CALOU *et al.*, 2008), gastroprotetora (GUEDES *et al.*, 2002), antinociceptiva (GUEDES *et al.*, 2002) e analgésica (MELO *et al.*, 2006).

Figura 5 – Estrutura molecular do ácido centipédico



2.3 Extrato de *E. viscosa*: oportunidade de mercado e aplicações

A produção de extratos de plantas é uma oportunidade de negócio promissora, que permite a sua utilização em diferentes áreas, como farmacêutica, alimentícia e cosmética (NAVIGLIO *et al.*, 2007). Por exemplo, PIOVESAN (2012) estudou a extração e a aplicação de extrato etanólico de marcela (*Achyrocline satureioides*) em linguiça de frango e avaliou a

atividade antioxidante do extrato, revelando a eficiência deste na redução da oxidação lipídica de linguças de frango e a aceitabilidade sensorial do produto final em 70%.

Estudos realizados com os capítulos florais de *E. viscosa* secos evidenciaram a presença de compostos bioativos com atividade farmacológica e a sua aplicação para o tratamento e a prevenção de várias patologias (CALOU *et al.*, 2008; GUEDES *et al.*, 2008a; BATISTA *et al.*, 2012). Porém, nesses trabalhos não foi relatado a utilização de técnicas de extração, a seletividade dos solventes e a avaliação das condições operacionais para a máxima obtenção desses compostos.

A produção de extratos livres de compostos indesejáveis e ricos em componentes de interesse, ainda é um desafio, que pode ser contornado com a utilização de solventes compatíveis quimicamente aos compostos e as condições operacionais, como a temperatura, para que não haja perda da atividade biológica dos compostos (CRESPO; BRAZINHA, 2010). Grande parte dos materiais vegetais, antes da extração, passam pelo processo de secagem, que também deve ter parâmetros como: temperatura, tempo e velocidade do ar, controlados (PURANIK *et al.*, 2012). O rendimento dos compostos depende desses processos, que devem permitir a extração completa das substâncias de interesse sem que haja modificações químicas do material de estudo (BARBOSA *et al.*, 2014).

2.4 Secagem de plantas medicinais

Devido ao alto teor de água nas plantas, o processo de secagem destas é fundamental para evitar degradação enzimática e atividades microbianas indesejáveis, que causam mudanças na sua composição bioativa (MRAD *et al.*, 2012). Permite também a diversificação e o armazenamento de plantas medicinais por tempo prolongado, com redução das perdas no período de colheita (ROCHA; MELO; RADÜNZ, 2011).

Parâmetros como temperatura e o tipo de secagem devem ser compatíveis com o material estudado, para garantir a qualidade e o máximo teor dos princípios ativos nas plantas medicinais (RADÜNZ *et al.*, 2014). Efeitos indesejáveis da secagem podem ser reduzidos ao mínimo por meio do monitoramento adequado de variáveis de controle apropriadas, já que esta pode afetar a qualidade das ervas com mudanças na aparência, no aroma e na composição bioativa, reduzindo sua atividade farmacológica (HOSSAIN *et al.*, 2010; LEMUS-MONDACA *et al.*, 2016).

Uma dessas variáveis é a temperatura, visto que a sensibilidade térmica dos compostos é um fator limitante. Em temperaturas elevadas a agitação das moléculas de água no interior da matriz celular aumenta, facilitando a difusão desta para fora da célula, além de

reduzir significativamente o tempo de secagem (GONELI *et al.*, 2007; ZIELINSKA; ROPELEWSKA; MARKOWSKI, 2017). Por esse motivo, o controle desses parâmetros operacionais da secagem são importantes para garantir a qualidade final do produto. Estes podem ser definidos a partir de um estudo de cinética, no qual a difusividade efetiva de umidade, a temperatura e a energia de ativação do processo, fornecem um *design* ideal de secagem para o material estudado (PURANIK *et al.*, 2012; MGHAZLI *et al.*, 2017).

2.4.1 Aplicação da secagem em plantas medicinais

A operação de secagem é aplicada como etapa fundamental quando se trata de plantas medicinais, devido a utilização desse produto nas indústrias alimentícias, farmacêuticas e químicas. O processo de secagem atua no aumento da vida de prateleira do material vegetal, preferencialmente sem afetar os compostos bioativos presentes na matriz (SHI *et al.*, 2017).

Em estudo comparativo entre métodos de secagem de flores de *Chrysanthemum morifolium* Ramat, utilizadas na elaboração de chás e bebidas funcionais, SHI *et al.* (2017) observaram que os maiores teores de compostos ativos e nutricionais do material foram obtidos em secagem por micro-ondas. LEMUS-MONDACA *et al.* (2016), em estudo do efeito da temperatura de secagem do ar (30-80°C) em folhas de *Stevia rebaudiana*, utilizadas para fins farmacêuticos e alimentícios, observaram que, com o processo de secagem, os teores dos compostos ativos e a atividade antioxidante reduziram com o aumento da temperatura e que o máximo teor desses compostos foi obtido em temperaturas abaixo de 50 °C, mas ainda permaneceram em teores elevados, quando comparado a outros estudos. ARGYROPOULOS; MÜLLER (2014), em estudo da temperatura (30-90°C) de secagem ao ar quente, avaliou o teor de óleo essencial na composição das folhas de *Melissa officinalis* L., relatando perda significativa de óleo em temperaturas mais elevadas.

2.5 Extração de produtos naturais

2.5.1 Métodos de extração

O desenvolvimento em pesquisas sobre produtos naturais ocasionou expansão e modificação de métodos tradicionais de extração, surgindo processos econômicos e sustentáveis, que permitem o isolamento de compostos bioativos de matrizes naturais e uma rápida, seletiva e eficiente extração (BARBA; GRIMI; VOROBIEV, 2014; HERRERO *et al.*, 2015; ROSELLÓ-SOTO *et al.*, 2015).

Métodos convencionais, como hidrodestilação e Soxhlet, apresentam desvantagens, tais como: tempo de extração prolongado, elevado consumo de energia e possíveis perdas ou

danos de compostos voláteis (PRESTI *et al.*, 2005; DE RIJKE *et al.*, 2006; GAVAHIAN *et al.*, 2012). As melhorias nos métodos de extração devem ter finalidade de reduzir o tempo de processo e o custo de operação, e aumentar o rendimento de extração (JEYARATNAM *et al.*, 2016).

2.5.1.1 Extração em aparelho Soxhlet

A extração em aparelho Soxhlet, segundo LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE (2010), é uma técnica contínua na qual os componentes contidos na matriz sólida são extraídos dissolvendo-se em um solvente líquido. A amostra, colocada em cartucho de celulose, é gradualmente lavada com solvente à medida que ocorre a destilação. Quando o líquido atinge o nível de transbordamento, o sifão aspira o soluto do cartucho e o descarrega de volta para o balão de destilação, realizando assim a extração dos analitos para o líquido. Esta operação é repetida até que a extração esteja completa. Ao final do processo é obtida uma solução de soluto+solvente, que é levada a um evaporador, para a remoção do solvente e obtenção do extrato concentrado (PEREIRA; VIEIRA; MENDES, 2011).

Essa extração é uma técnica tradicional, demorada e utiliza grandes volumes de solventes orgânicos, mas é atualmente utilizada devido a elevada recuperação do soluto e como forma de referência para o estudo comparativo com outras técnicas (RODRÍGUEZ-SOLANA *et al.*, 2014). Estudos propondo modificações nos métodos convencionais de extração, como o Soxhlet, são realizados na tentativa de reduzir o tempo de extração e a quantidade do solvente utilizado. Essas modificações propõem extrações com fluidos supercríticos, com altas pressões, ultrassom e micro-ondas (LUQUE DE CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

2.5.1.2 Extração com fluido supercrítico (EFS)

A extração com fluido supercrítico (EFS) é baseada na utilização de solventes em condições acima do seu ponto crítico (CRUZ *et al.*, 2017). Esta técnica é uma alternativa de extração eficaz e econômica, quando comparada a métodos tradicionais de extração, que utilizam grandes quantidades de solventes orgânicos, são mais lentos e geram resíduos consideráveis (MARQUES *et al.*, 2016). Uma das principais características do fluido supercrítico é a possibilidade de mudar a densidade do fluido, ajustando sua pressão e/ou temperatura e assim também alterando sua solubilidade (HERRERO *et al.*, 2015).

O dióxido de carbono, na fase supercrítica, é o solvente normalmente utilizado na EFS. Nesta fase, ele assume característica não polar, o que limita o seu poder como solvente, quando se trata de extração de compostos polares (CRUZ *et al.*, 2017; GALLO *et al.*, 2017). O

CO₂ é seguro, não tóxico, não cancerígeno, não inflamável, inerte, facilmente disponível em um nível de pureza elevada, econômico, além de possuir baixa tensão superficial, baixa viscosidade com alta difusividade e trabalha em condições críticas suaves de temperatura (31,1 °C) e pressão (7.38 Mpa) (HUANG; SHI; JIANG, 2012).

A vantagem desta técnica é que, ao final da extração, o solvente é removido na forma de um gás, permitindo a fácil recuperação dos compostos extraídos (GALLO *et al.*, 2017), além de operar a baixas temperaturas, atuando, assim, na preservação dos componentes termicamente instáveis dos extratos e não ocasionando danos ambientais, uma vez que não utiliza solventes orgânicos ou utiliza cossolventes significativamente menos poluentes (ZHAO; ZHANG, 2014), tais como álcoois (metanol e etanol) adicionados ao sistema para aumentar seu poder de diluição, alterando a polaridade do fluido (HUANG; SHI; JIANG, 2012). Entre as desvantagens desse método encontram-se o alto custo do equipamento, o risco de se trabalhar com elevadas pressões, além de baixo rendimento na extração de compostos polares, requerendo a utilização de cossolventes.

Além da extração com fluido supercrítico (EFS), outro método desenvolvido para superar os problemas encontrados na extração tradicional é a extração líquida pressurizada (PLE) (DJOUAHRI; BOUDARENE; MEKLATI, 2013).

2.5.1.3 Extração líquida pressurizada (PLE)

A extração líquida pressurizada (PLE), também conhecida como extração acelerada por solvente surgiu como alternativa para métodos convencionais de extração, uma vez que permite a extração mais rápida e reduz o consumo de solvente (MACHADO *et al.*, 2015). A PLE proporciona uma maior recuperação dos compostos de interesse, sendo possível realizar várias extrações consecutivas (LAU; GAN; NG, 2010).

A PLE consiste em um sistema automatizado que trabalha com solvente acima do seu ponto de ebulição devido à alta pressão, acelerando o processo de extração total, ou seja, a transferência de massa, e, com isso, a recuperação dos compostos de interesse (CHO *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2010). Porém, a elevada pressão, aumenta os custos desse método em escala industrial (DAI; MUMPER, 2010).

Métodos de extração, como Soxhlet e PLE, que visam a extração de compostos bioativos e utilizam solventes orgânicos, devem levar em consideração a natureza química do solvente. Esta dependerá dos compostos de interesse, da polaridade e das características químicas de cada material vegetal a ser extraído, o que o torna solúvel ou não em um determinado solvente (SULTANA; ANWAR; ASHRAF, 2009; SUN *et al.*, 2012).

A água, solvente polar, em condições subcríticas, pode ter sua constante dielétrica alterando a temperatura que, por sua vez, altera sua polaridade, assim assumindo constante dielétrica semelhante a de solventes orgânicos, como metanol, etanol e acetona à temperatura ambiente (DAI; MUMPER, 2010; BODOIRA *et al.*, 2017). Além disso, a mistura da água com outros solventes como o etanol, pode modificar sua polaridade, aumentando a solubilidade dos compostos de interesse (HERRERO; CIFUENTES; IBANEZ, 2006).

A PLE utiliza solventes ou mistura destes, operando em alta temperatura (até 200 °C), reforçando a solubilidade dos compostos, a cinética de dessorção da matriz (PRONYK; MAZZA, 2009; MUSTAFA; TURNER, 2011) e alta pressão (até 1500 psi) (HOSSAIN *et al.*, 2011), o que permite que o solvente permaneça em estado líquido, mesmo quando sua temperatura está além do seu ponto de ebulição (PRONYK; MAZZA, 2009; MUSTAFA; TURNER, 2011). Na PLE a solubilidade dos compostos, a taxa de difusão do soluto e a transferência de massa são elevadas enquanto que a viscosidade e a tensão superficial do solvente são reduzidas (HOSSAIN *et al.*, 2011).

A duração do ciclo estático, ou seja, o tempo que o solvente permanece em contato com a amostra, e o número de ciclos, quantidade de vezes que o solvente passa pela célula, estão associados à temperatura e a pressão, formando um conjunto de fatores que influenciam na eficiência da extração (MANTOVANI, 2014). Essa eficiência também depende da natureza da matriz da amostra, do analito a ser extraído e da localização deste dentro da matriz (SUN *et al.*, 2012).

Embora já se tenha relatos de trabalhos com extração de capítulos florais de *E. viscosa*, não há registros até o presente momento, de extrações desse material vegetal em aparelho Soxhlet, com fluido supercrítico (EFS) ou com líquido pressurizado (PLE), estudo de seletividade de solventes e de condições operacionais para a obtenção dos seus compostos bioativos. Uma forma de determinar e otimizar essas condições é por meio da metodologia de superfície de resposta (MSR).

2.6 Metodologia de superfície de resposta (MSR)

A metodologia de superfície de resposta (MSR) relaciona a variável resposta às variáveis independentes (CHEN *et al.*, 2017; SAHIN *et al.*, 2017), com o objetivo de realizar previsões estatísticas, descrevendo o comportamento de um conjunto de dados, baseados no ajuste de uma equação polinomial (BEZERRA *et al.*, 2008).

Antes de iniciar a MSR é preciso determinar o planejamento experimental que defina quais as condições devem ser realizados na região experimental do estudo. Existem

matrizes experimentais para modelos de primeira ordem, como os fatoriais, e de segunda ordem, como Box-Behnken, composto central e Doehlert (BEZERRA *et al.*, 2008).

O planejamento de composto central é um tipo comum de MSR, que inclui pontos de canto, pontos axiais e um ponto central (correspondente a '+1', '-1', '- α ', '+ α ' e '0'). A inclusão de pontos axiais permite a formação de um modelo com termos quadráticos para explicar o efeito da curvatura (CHEN *et al.*, 2017), e recomenda-se utilizar de três a cinco pontos centrais a fim de prover variância razoavelmente estável para a resposta prevista (CALADO e MONTGOMERY, 2003).

Para a obtenção das melhores condições do processo, realiza-se a otimização do planejamento experimental. A partir dos dados ajustados aplica-se a função desejabilidade, que determina as condições ideais do processo, e com isso os melhores parâmetros das respostas são determinados simultaneamente (PIMENTA *et al.*, 2015). Dessa forma as respostas podem ser minimizadas ou maximizadas, dependendo da situação mais adequada para o processo (WANG; WAN, 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material botânico

Para o estudo de secagem, os capítulos florais de *E. viscosa* foram colhidos imediatamente antes do experimento, no campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE, Brasil. Para os processos de extração, os capítulos florais foram adquiridos na loja Baldarate, localizada na região do antigo mercado central de Fortaleza-CE. Este material foi armazenado em local seco e arejado no Laboratório Multiusuário Química de Produtos Naturais da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza-CE.

Nos testes preliminares de extração foram utilizados capítulos florais secos e inteiros, enquanto que, nas extrações posteriores, os capítulos florais foram previamente triturados em moinho analítico da marca IKA® A 11 basic e, então, as partículas foram separadas em peneira vibratória da marca Fritsch Analysette 3 em quatro granulometrias diferentes. No presente estudo utilizou-se partículas de diâmetro de $1\text{mm} > x > 250\ \mu\text{m}$.

3.2 Etapas do estudo

Nesse estudo foi realizado, inicialmente, a avaliação da cinética de secagem dos capítulos florais de *E. Viscosa* seguida pelo experimento de extração.

A extração dos compostos bioativos foi dividida em duas fases: testes preliminares e otimização das condições de extração. Os testes preliminares foram feitos em duas etapas

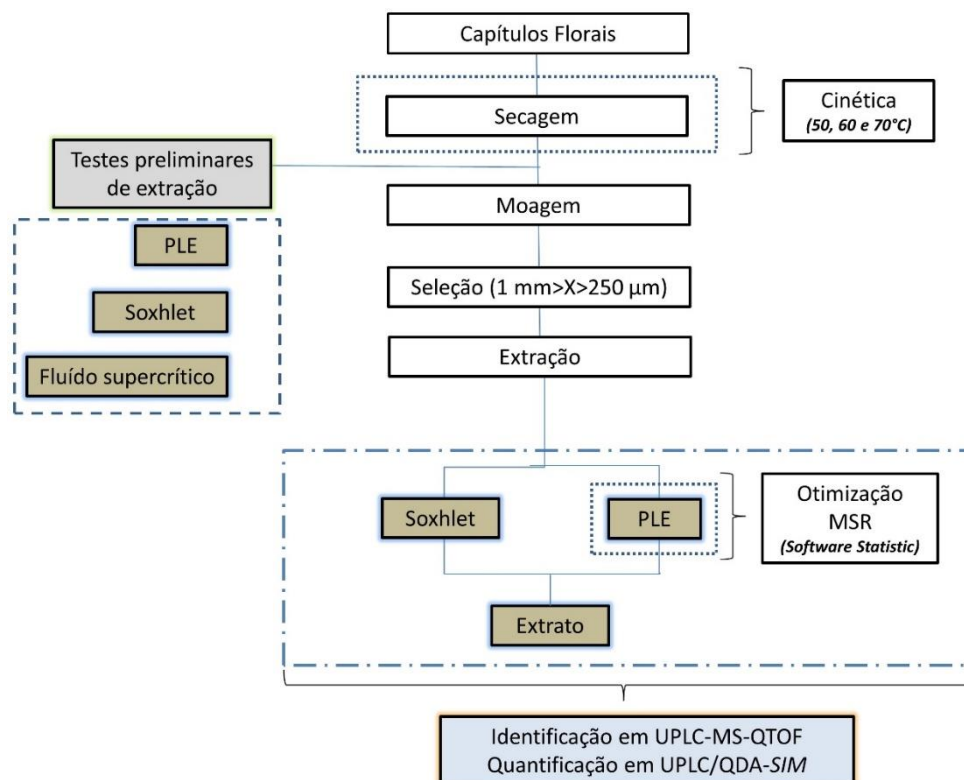
afim de avaliar qual a melhor técnica de extração dos compostos de *E. viscosa*, utilizando solventes de polaridades diferentes. Os solventes utilizados nas extrações foram: hexano, clorofórmio, acetato de etila, metanol e etanol. Nessa etapa foram feitas extrações em aparelho Soxhlet, com fluido supercrítico (EFS) e com solvente líquido pressurizado (PLE).

Na fase de otimização, foram avaliadas as condições operacionais ideais de extração e do solvente, escolhido nos testes preliminares, e foi empregada uma metodologia de superfície de resposta (MSR) a partir de um modelo de composto central, elaborado no *software STATISTICA*, versão 6.0. A extração e o solvente utilizados foram a PLE e diferentes proporções de etanol/água, respectivamente.

As determinações analíticas foram realizadas por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a espectrômetro de massas (UPLC-MS-QTOF) e por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos e espectrômetro de massas (UPLC/QDA-SIM), nos quais onde os três compostos foram monitorados em uma única corrida cromatográfica e análises estatísticas.

Todas as etapas realizadas no presente estudo estão apresentadas no fluxograma da Figura 6.

Figura 6 - Fluxograma das etapas do estudo do processamento de capítulos florais de *E. viscosa*.



3.3 Secagem

Os capítulos florais foram colhidos manualmente no campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical (Fortaleza-CE, Brasil), antes do experimento de secagem, que ocorreu no mesmo dia da colheita. O experimento foi realizado em estufa com circulação e renovação de ar Tecnal-TE 394/1, no Laboratório de Análise e Desenvolvimento de Processos (LADP) da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil.

No estudo de secagem foram utilizadas três temperaturas (50, 60 e 70 °C) e velocidade do ar de 0,5 m/s. Os capítulos florais (1,4-1,6 g), com espessura média de 0,5 mm, foram dispostos uniformemente em papel alumínio dentro de placas de Petri e colocados na câmara de secagem. As amostras foram pesadas a cada 15 minutos, durante 2h, e em seguida, a cada 30 minutos até o teor de umidade atingir o equilíbrio. Os experimentos de secagem foram realizados em duplicata com uma amostra controle para cada temperatura, que permaneceu em estufa por 24h para confirmar o equilíbrio da umidade. Na Figura 7, são apresentadas as etapas do processo de secagem dos capítulos florais de *E. viscosa*.

Figura 7- Etapas do processo de secagem dos capítulos florais de *E. viscosa* colhidos no campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical.



3.3.1 Cinética de secagem

As curvas de secagem foram determinadas utilizando os dados obtidos nas diferentes temperaturas testadas. O teor de umidade foi convertido para a razão de umidade adimensional (MR) calculada pela equação 1:

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e} \quad (1)$$

Na qual, M_t , M_0 , M_e são as massas de água nos tempos de secagem, na umidade inicial e no equilíbrio do teor de umidade, respectivamente.

3.3.2 Difusividade efetiva da umidade e Energia de ativação

Os coeficientes de difusividade efetiva para as condições de secagem foram calculados utilizando um modelo de regressão não-linear implementado no *Software Origin* (versão 8.0). O mecanismo da difusividade efetiva de umidade é controlado pela difusão do líquido descrito pela segunda Lei de Fick, determinada em coordenadas cartesianas e em forma adimensional (Equação 2).

$$\frac{\partial M_R}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial y} \left(Deff \frac{\partial M_R}{\partial y} \right) \quad (2)$$

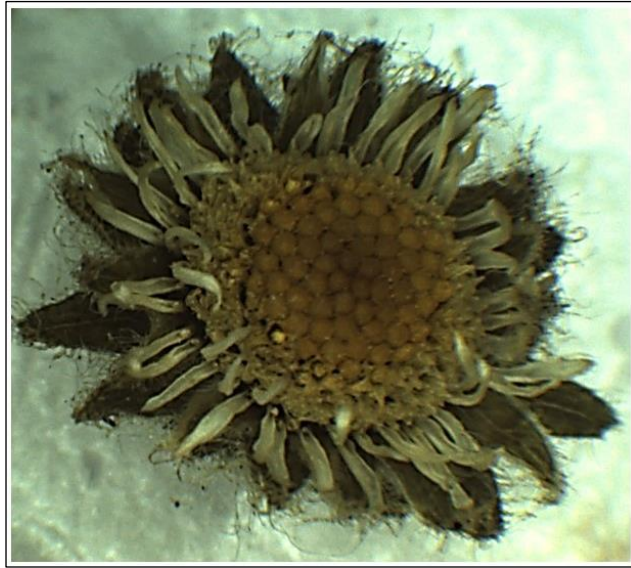
Na qual, $Deff$ é a difusividade efetiva da umidade (m^2/s), t é o tempo de secagem (s), y é a coordenada espacial do centro a borda dos capítulos florais e MR é a razão de umidade.

Na determinação da difusividade efetiva de umidade nas amostras, admitiu-se inicialmente que o material vegetal era uma superfície circular. No entanto, quando os dados experimentais foram aplicados à equação de materiais esféricos, os mesmos não se ajustaram. Então, de acordo com a complexidade estrutural do material (Figura 8), foi observado que a difusão da água deveria ocorrer do centro ao topo dos capítulos florais. Dessa forma, definiu-se este material como uma superfície plana. Em razão disso, aplicou-se a equação 3 para determinar a difusividade efetiva da água nas amostras. Além disso, consideramos a condição de limite do teor de umidade na superfície do produto e desconsideramos o encolhimento volumétrico dos capítulos florais como condições de contorno para a equação.

$$MR = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left(\frac{-(2n+1)^2 \cdot \pi^2 \cdot Deff \cdot t}{4L^2} \right) \quad (3)$$

Na qual, $Deff$ é a difusividade efetiva (m^2/s), L é a espessura média dos capítulos florais (m), n é o número de termos e t é o tempo (s).

Figura 8 – Capítulo floral de *E. viscosa in natura* observado em lupa digital (ampliação 10X).



Fonte: Autor, 2018.

A solução analítica para a equação 3 é apresentada na forma de uma série infinita, portanto o número de termos (n) empregados na fórmula determinam a precisão dos resultados obtidos. No estudo foram empregados dois termos para oferecer uma estimativa do coeficiente de difusividade efetiva.

A dependência da temperatura em função da *Def* foi definida pela equação de Arrhenius (Equação 4) a fim de obter a energia de ativação (E_a) da secagem. A E_a é uma barreira que as moléculas de água devem ultrapassar para que a difusão ocorra no material vegetal (CORRÊA; RESENDE; MARTINAZZO, 2007). Em processos de secagem, quanto maior a energia de ativação, menor será a difusividade de água no produto (GONELI *et al.*, 2014b).

$$Def = D_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (4)$$

Na qual, E_a é a energia de ativação (KJ/mol), D_0 é o fator pré-exponencial da equação de Arrhenius para o processo de secagem (m^2/s), R é a constante universal dos gases (8,314 KJ/mol K) e T é a temperatura absoluta (K).

3.3.3 *Quantificação dos compostos após processo de secagem*

Após o processo de secagem, o material foi extraído por infusão em água, que é a forma utilizada popularmente para fins medicinais, segundo método da Farmacopéia Brasileira (ANVISA, 2016). Os capítulos florais secos foram imersos em água fervente (100°C) por 10 minutos, então a separação sólido/líquido foi realizada com o auxílio de uma peneira e o chá

foi filtrado em filtro PTFE de 0,22 µm e analisados por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrômetro de massas (UPLC/QDA-SIM).

3.4 Testes preliminares de extração

Testes preliminares de extração foram realizados com o objetivo de se avaliar as extrações com maior rendimento dos extratos e dos compostos bioativos de *E. viscosa* em relação aos solventes utilizados. Os testes foram divididos em duas etapas. Na primeira etapa, com os capítulos florais secos e inteiros, as extrações foram realizadas com os seguintes solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol para extrações em Soxhlet e com líquido pressurizado, e os solventes CO₂ e hexano para a extração com fluido supercrítico. A partir dos resultados obtidos, passou-se para a segunda etapa, na qual foram repetidas as extrações com as técnicas e os solventes que obtiveram maior rendimento na etapa anterior, mas, desta vez, com os capítulos florais secos e moídos.

A escolha dos solventes foi baseada na polaridade dos compostos de interesse e em estudos anteriores, nos quais foram utilizados etanol, hexano, clorofórmio, hexano/acetato de etila (1:1) para a extração de ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico (LIMA *et al.*, 1996; MELO *et al.*, 2006; CALOU *et al.*, 2008; GUEDES *et al.*, 2008). As extrações com fluido supercrítico e com líquido pressurizado foram escolhidas, principalmente devido ao seu curto tempo de extração e ao baixo consumo de solventes. E a extração em Soxhlet foi utilizada como método de extração de referência por se tratar de uma técnica convencional.

3.4.1. Extração em aparelho Soxhlet

Na primeira etapa do presente estudo, a extração foi realizada de forma sequencial, na seguinte sequência de solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. Inicialmente, pesaram-se 10 g de capítulos florais inteiros em cartucho de celulose e adicionaram-se em um balão de destilação 150 ml do solvente. Após cada extração, o cartucho foi deixado em capela por 1h a fim de se retirar o excesso de solvente da extração anterior.

As condições estabelecidas nesse processo foram: de 4 a 5 refluxos por hora, temperatura constante de 70°C e refluxo fixo de 5h para cada extração.

Após avaliação dos resultados da primeira etapa, a extração em Soxhlet, por ser uma técnica de referência e, por fornecer resultados satisfatórios para o rendimento total do extrato, foi repetida na segunda etapa. Nesta, a extração foi realizada com os seguintes solventes: clorofórmio, acetato de etila e etanol, de forma que cada processo possuísse um cartucho/material vegetal diferente, ou seja, diferentemente da primeira etapa, na extração não

foi utilizado solvente de forma sequencial. Nesta etapa o material vegetal utilizado foram os capítulos florais moídos com diâmetro entre $1\text{mm} > x > 250\ \mu\text{m}$.

As condições estabelecidas nessa etapa foram: de 5 a 7 refluxos por hora, temperatura constante de 70°C e refluxo fixo de 10h para cada extração.

Após o término do período de extração e esfriamento da mistura, esta foi concentrada a vácuo em evaporador rotativo IKA® RV 10, à temperatura de $40\ ^\circ\text{C}$, para obtenção do extrato bruto. Os Apêndices A e B ilustram os processos de extração realizados em aparelho Soxhlet.

3.4.2 Extração com fluido supercrítico

A extração com fluido supercrítico foi realizada em extrator TharSFC, a Waters 575 Epsilon Drive. A metodologia e as condições utilizadas foram baseadas no que foi proposto por HSU *et al.* (2016), com modificações. Inicialmente adicionaram-se 110g de capítulos florais inteiros de *E. viscosa* na célula extratora. Para o início do processo, ajustou-se a temperatura do banho de resfriamento termostático em $-2\ ^\circ\text{C}$. Com todas as válvulas fechadas e o banho em equilíbrio térmico, foram determinadas as seguintes condições para o processo: CO₂ como solvente de extração, vazão de 50 g/min, pressão de 150 bar e temperatura de $50\ ^\circ\text{C}$. O tempo total de extração foi de 1h e 30 minutos.

Após o término da extração, o vaso coletor foi aberto na parte superior e a emulsão formada foi lavada com hexano. Então, a mistura foi concentrada à vácuo.

3.4.3 Extração com líquido pressurizado (PLE)

A PLE foi realizada em extrator Dionex ASE 350. Na primeira etapa do presente estudo, pesaram-se 12 g dos capítulos florais inteiros, os quais foram adicionados em uma célula de extração de volume de 66 ml. A extração foi realizada de forma sequencial com os seguintes solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol

As condições do processo foram: temperatura de $90\ ^\circ\text{C}$; aquecimento estático de 5 min; volume de enxágue com 60 % de solvente; tempo de extração de 10 min em cada ciclo, com um total de 3 ciclos por solvente e purga de 200 s.

Após avaliação dos resultados da primeira etapa, a extração em PLE forneceu resultados satisfatórios para o rendimento total do extrato. Portanto, prosseguiu-se com esta técnica para a segunda etapa. Nesta, utilizaram-se 5 g dos capítulos florais moídos, que foram misturados a 5 g de terra diatomácea (Thermo Scientific). A extração foi realizada com os seguintes solventes: clorofórmio, acetato de etila e etanol, de forma não sequencial, para melhor

investigação da seletividade desses solventes. As condições desta etapa foram: temperatura de 90 °C; aquecimento estático de 5 min; volume do enxágue de 60 % de solvente; tempo de extração de 10 min em cada ciclo, com um total de 5 ciclos por solvente e purga de 200 s.

Após o término do período de extração, a mistura foi concentrada a vácuo em evaporador rotativo IKA® RV 10, à temperatura de 40 °C. Os Apêndices C e D ilustram os processos de extração realizados em extrator líquido pressurizado.

3.5 Otimização das condições de extração em PLE utilizando a metodologia de superfície de resposta (MSR)

Baseado nos resultados dos testes preliminares de extração foi desenvolvido uma metodologia de superfície de resposta (MSR) para um modelo quadrático de composto central utilizando o *software STATISTICA*, (versão 6.0), buscando determinar a combinação dos parâmetros operacionais temperatura e proporção de etanol/água que forneçam a maior concentração dos compostos bioativos de *E. viscosa*. As variáveis independentes foram: temperatura e proporção de etanol/água (v/v), e as variáveis respostas foram: concentração do extrato bruto, de ternatina, de lactona do ácido hawtriwaico e de ácido centipédico.

Os parâmetros de máximo e mínimo estabelecidos para as variáveis independentes foram determinados com base na literatura e nos limites operacionais do equipamento. O valor máximo da temperatura foi de 130 °C e o mínimo foi de 70 °C. Para a proporção de etanol/água os valores máximo e mínimo foram de 80 % e 20 %, respectivamente (Tabela 2). O planejamento experimental consistiu em 8 experimentos fatoriais e 3 repetições do ponto central, totalizando 11 experimentos.

Tabela 2 – Níveis das variáveis independentes nas escalas codificada e real, utilizados no planejamento experimental para a otimização da extração em PLE.

Símbolo	Variáveis	Níveis				
		-α	-1	0	1	+α
X₁	Temperatura	57,6	70	100	130	142,4
X₂	% EtOH	7,6	20	50	80	92,4

Fonte: Autor, 2018.

A superfície de resposta na região investigada é uma função quadrática representada pela equação 5:

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_1^2 + b_3X_2 + b_4X_2^2 + e \quad (5)$$

Na qual, b_0 , b_1 , b_2 , b_3 e b_4 são estimadores dos parâmetros do modelo, y representa a variável resposta, X_1 e X_2 representam as variáveis independentes codificadas e e é o erro experimental.

A PLE foi realizada em extrator Dionex ASE 350. Inicialmente, pesaram-se 5 g dos capítulos florais secos e moídos. O material foi adicionado em uma célula de extração de 34 mL juntamente aos 5 g de terra diatomácea (Thermo Scientific). As condições do processo foram: aquecimento estático de 5 min; volume de enxágue de 60 %; tempo de extração de 5 min com um ciclo e purga de 200 s. Após o término do período de extração, a mistura foi concentrada a vácuo em evaporador rotativo IKA[®] RV 10 à temperatura de 40 °C, para retirada do etanol. Em seguida, a mistura foi liofilizada em liofilizador piloto Terroni LC 1500 durante 4 dias.

A partir dos resultados obtidos no planejamento experimental foram realizadas novas extrações em PLE com as amostras em que a maior concentração dos compostos foi observada. Com base nesses valores, ainda foi aplicada a função desejabilidade para obter parâmetros operacionais ideais das variáveis independentes temperatura e proporção de etanol/água (v/v).

3.6 Determinações analíticas

3.6.1 Rendimento dos testes preliminares das extrações

O rendimento dos extratos foi calculado de acordo com a equação 6:

$$\text{Rendimento dos extratos} = \frac{\text{ME}}{\text{MI}} \times 100 \quad (6)$$

Na qual, ME é a massa do extrato seco, em gramas, obtido após a extração e MI é a massa inicial, em gramas, dos capítulos florais utilizados em cada extração

3.6.2 Espectrometria de massas

A cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para identificar os compostos majoritários, principalmente ternatina, ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, presentes nos extratos. A análise foi realizada em um sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo/Tempo de Voo (QTOF, Waters). As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna Waters Acquity UPLC BEH (150 x 2,1 mm, 1,7 µm), temperatura constante de 40 °C, tendo como fases móveis, água com 0,1 % de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (B), gradiente variando de 2 % a 95 % B (15 min), fluxo de 0,4 mL/min e volume de injeção de 5 µL.

Os cromatogramas foram analisados no modo ESI⁺, adquiridos na faixa de 110-1180 Da, temperatura da fonte de 120 °C, temperatura de dessolvatação de 350 °C, fluxo do gás de dessolvatação de 500 L / h e voltagem do capilar de 3,2 kV. Leucina encefalina foi utilizada como *lock mass*. O modo de aquisição foi MS^E. O instrumento foi controlado pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation).

3.6.3 UPLC/QDA-SIM

A quantificação dos três principais compostos presentes em *E. viscosa* foi realizada em um sistema ACQUITY UPLC® (Waters Crop, Milford, MA, USA) com detectores de arranjo de diodo e de massas do tipo quadrupolo (QDA). A separação foi realizada em coluna BEH C18 (2,1 x 150 mm, 1,7 µm) (Waters Crop, Milford, MA, USA) mantida a 40 °C, tendo como fases móveis, água com 0,1 % de ácido fórmico (A) e acetonitrila com 0,1 % de ácido fórmico (B), a uma taxa de fluxo de 0,4 mL/min, volume de injeção de 2 µL e temperatura da amostra de 20 °C. O gradiente estabelecido foi: 0 min, 56 % (B); 1 min, 62 % (B); 2,5 min, 62 % (B); 2,71 min, 71 % (B); 4,20 min, 71 % (B); 4,41 min, 86 % (B); 5,90 min, 86 % (B); 6,10 min, 100 % (B); 7,60 min, 100 % (B); 7,80 min, 56 % (B); 10 min, 56 % (B). Os espectros de massas foram adquiridos no modo positivo em uma faixa de massa entre 210-400 Da. A análise de massas foi realizada nas seguintes condições: modo *full scan* positivo, capillary 0.8 kV, temperatura de dessolvatação 600 °C, faixa de massa entre 70 e 1250 Da.

As condições no modo *SIM* foram otimizadas a fim de avaliar os íons precursores e seus produtos por meio de aquisição de varredura completa no modo de ionização positiva. O sistema de eluição foi cuidadosamente modificado, configurando os íons precursores selecionados para aquisição simultânea. Os íons foram medidos de acordo com a sensibilidade e seletividade ideal: o fragmento [M+H]⁺ 313 correspondente a perda de 60 Da de lactona do ácido hawtriwaico, que mostrou-se mais abundante do que o seu respectivo íon precursor, então este foi adotado como íon de quantificação. Para as outras substâncias o íon precursor, obtido em UPLC-QTOF foi o mesmo adotado em UPLC/QDA-SIM. Na Tabela 3 estão apresentadas as informações dos compostos bioativos de *E. viscosa* analisados em espectrômetro de massas (UPLC-QTOF) e em UPLC/QDA-SIM.

Tabela 3 – Identificação dos compostos bioativos de *E. viscosa* por UPLC-QTOF e compostos monitorados no UPLC/QDA no modo *SIM*.

Composto	Fórmula	UPLC-QTOF			UPLC/QDA-SIM			
		Tempo de retenção (min)	[M+H] ⁺	Erro	Tempo de retenção (min)	UV (nm)	[M+H] ⁺	Tempo de janela
Ternatina	C ₁₉ H ₁₈ O ₈	8,60	375,1078	-0,5	9,50	258; 273; 365	375,1	0,76 – 2,76
Lactona	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	10,57	373,2009	- 1,6	10,67	218	313,2	2,10 – 4,10
Ácido centipédico	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	13,02	317,2121	1,3	13,21	214	317,2	5,00 – 7,00

Fonte: Autor, 2018.

3.6.4 Análise estatística

Os dados foram tratados por análise estatística no *software STATISTICA* (versão 6.0). As análises de variância foram realizadas utilizando análise de *One Way ANOVA*. As diferenças significativas entre as amostras foram determinadas pelo teste de Tukey ao nível de confiança de 95 %. Para os dados do planejamento experimental, a adequação do modelo foi determinada pela avaliação da probabilidade de *F*.

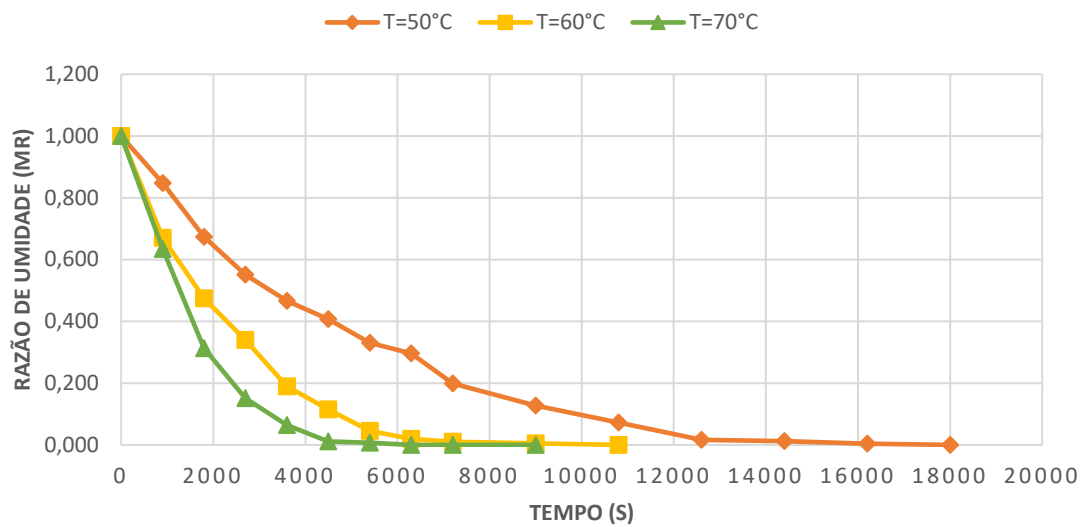
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Secagem

A temperatura ideal de secagem foi determinada por meio da cinética de secagem. Na Figura 9, observa-se que não há um período de secagem constante, apenas decrescente, este comportamento é influenciado pela temperatura do ar de secagem, que controla a difusão da umidade do interior à superfície dos capítulos florais. Com o processo de secagem, a umidade final dos capítulos florais foi de 16,5 %. O tempo de secagem reduziu com o aumento da temperatura, sendo o tempo necessário para secar os capítulos florais de 5, 3 e 2 horas a 50, 60 e 70 °C de temperatura do ar de secagem, respectivamente.

A redução no tempo de secagem com o aumento da temperatura também foi reportada em trabalhos com outras plantas medicinais, como o estudo da cinética de secagem de *Phyllanthus amarus* e *Phyllanthus niruri* (SOUSA *et al.*, 2017) e a avaliação das curvas de secagem de Guaco (*Mikania glomerata Spreng*) (RADÜNZ *et al.*, 2014). Esse efeito deve-se a uma taxa de secagem mais rápida em temperaturas elevadas, na qual há maior agitação das moléculas de água, facilitando a sua difusão para a superfície dos capítulos florais.

Figura 9 – Gráfico da relação entre o tempo e a razão de umidade dos capítulos florais de *E. viscosa* em temperaturas de 50 a 70°C.



Fonte: Autor, 2018.

Na Tabela 4 estão apresentadas as difusividades efetivas de umidade ($Deff$) para as diferentes temperaturas de secagem, os valores dos coeficientes de determinação ajustados (R^2) e a energia de ativação (E_a) do modelo. Observa-se que a $Deff$, determinada a partir do ajuste dos dados experimentais na equação 3, aumentou em temperaturas de secagem mais elevadas. A alta difusividade da umidade em elevadas temperaturas ocorre devido ao aumento da energia de aquecimento no material vegetal e a maior agitação das moléculas de água no interior da matriz celular (MGHAZLI *et al.*, 2017). Com a variação dessas propriedades, a movimentação da água aumenta através das células do material vegetal (GONELI *et al.*, 2014b).

Tabela 4 – Difusividades efetivas de umidade ($Deff$) e energia de ativação (E_a) dos capítulos florais de *E. viscosa* a temperaturas de 50 a 70 °C.

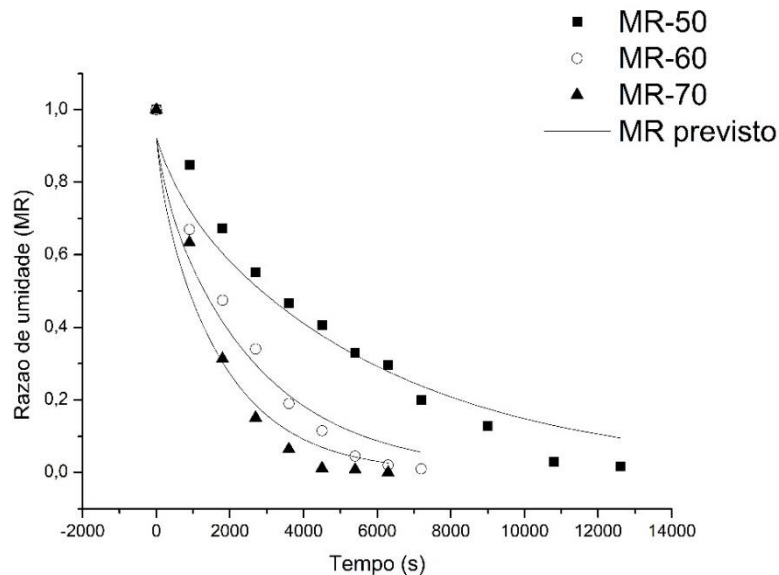
Temperatura (°C)	$Deff$ (m ² /s)	R^2	E_a (KJ/mol)	R^2
50	1,72E-09	0,952		
60	3,77E-09	0,968	45,1488	0,942
70	5,55E-09	0,964		

Fonte: Autor, 2018.

A razão de umidade (MR) prevista para os dados experimentais é apresentada na Figura 10. A presença de folhas ao redor dos capítulos florais e a sua irregularidade estrutural (Figura 11), tornam este material seletivo em relação a escolha do modelo utilizado no estudo de secagem. Isso pode ser observado pela não uniformidade da MR prevista em relação aos

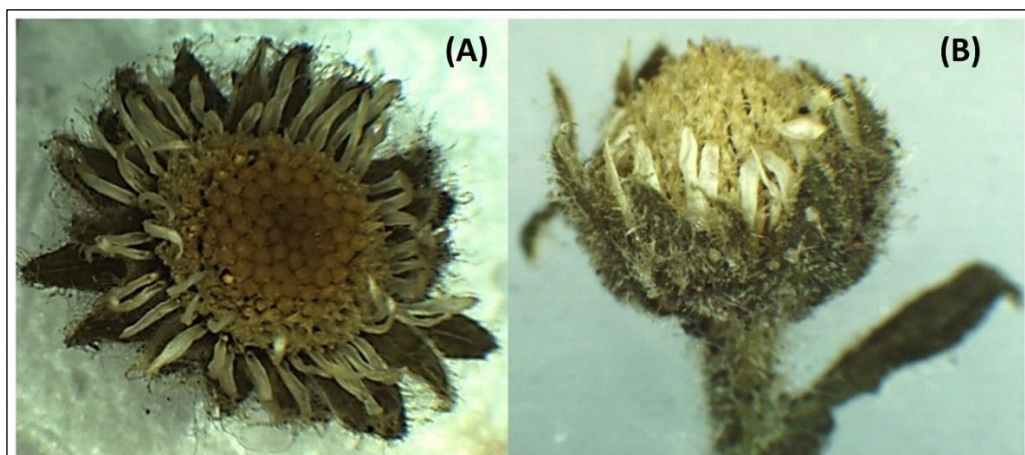
dados experimentais. Embora o modelo utilizado tenha sido simplista para a complexa superfície do material, nota-se que o R^2 (0,94) foi satisfatório, quando comparado a outros estudos de secagem de plantas medicinais (0,80-0,99) (HARBOURNE *et al.*, 2009; AYADI *et al.*, 2014). Os valores desses parâmetros apresentados na literatura são modificados com o tipo de secagem utilizada, a natureza do material e pela complexidade da sua matriz (RESENDE *et al.*, 2011). Essa complexidade da estrutura dos capítulos florais defini o sentido percorrido pela água do centro para a parte superior do material e, portanto, a adoção de uma superfície plana como condição de contorno da equação 3.

Figura 10 – Gráfico da relação entre a razão de umidade (MR) experimental e a prevista pelo modelo, para a secagem de capítulos florais de *E. viscosa* em temperaturas de 50 a 70°C.



Fonte: Autor, 2018.

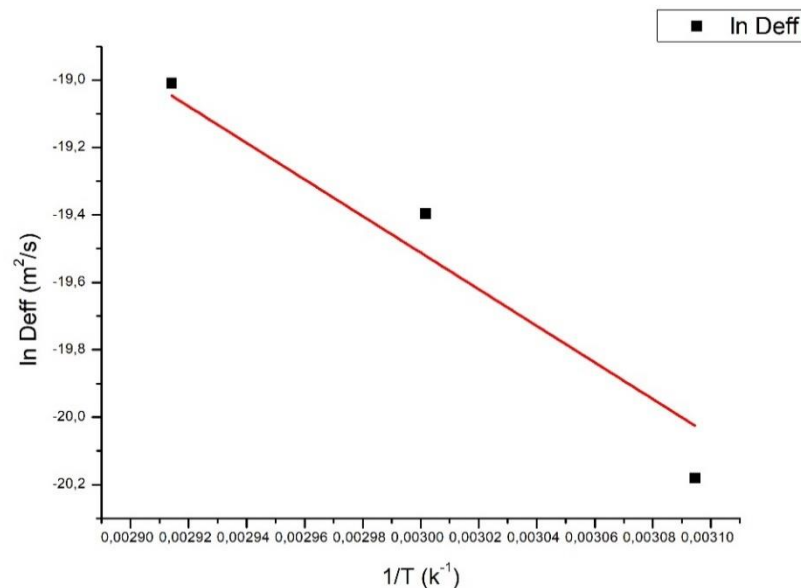
Figura 11 - Estrutura externa dos capítulos florais de *E. viscosa*, antes (A) e depois (B) do processo de secagem.



Fonte: Autor, 2018.

A dependência do coeficiente de difusividade efetiva da temperatura do ar de secagem foi descrita pela equação de Arrhenius (Equação 4). Valores para $\ln(D_{eff})$ em função do inverso da temperatura (k) (Figura 12) forneceram uma energia de ativação (E_a) de 45,14 KJ/mol (Tabela 5). Energias de ativação mais altas são tipicamente encontradas em processamentos de alimentos. Esse valor encontra-se dentro da faixa de energia de ativação (15,7 a 53,51 KJ/mol) proposta por outros estudos de secagem de alimentos (MRAD *et al.*, 2012; ARGYROPOULOS; MÜLLER, 2014).

Figura 12– Relação do tipo Arrhenius entre a difusividade efetiva de umidade e a temperatura para secagem de capítulos florais de *E. viscosa*.



Fonte: Autor, 2018.

4.1.1 Efeito da secagem na concentração dos compostos bioativos de *E. viscosa*

Após a secagem dos capítulos florais de *E. viscosa*, foi realizada a extração dos compostos bioativos por meio de infusão em água. O teor das substâncias no chá dos capítulos florais foi determinado em UPL/QDA-SIM.

Na Tabela 5, estão apresentadas as concentrações de ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico em miligramas do composto por litro de chá. Embora os testes estatísticos mostrem que não houve diferença significativa entre as concentrações dos compostos nas diferentes temperaturas de secagem, nota-se que, dentre os três princípios ativos presentes no material vegetal colhido no Horto da Embrapa, os diterpenos lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico possuem concentração maior do que o flavonóide ternatina. A concentração de metabólitos secundários é susceptível a variações por diversos fatores tais

como a época de colheita, condições edafoclimáticas e o local de plantio (VERMA; SHUKLA, 2015).

Tabela 5 – Concentração dos compostos bioativos extraídos do chá dos capítulos florais de *E. viscosa* após o processo de secagem em temperaturas de 50 a 70 °C.

Temperatura de secagem (°C)	Concentração (mg.L ⁻¹)		
	Ternatina	Lactona	Ácido centipédico
50	$10,6 \times 10^{-2} \pm 3,6 \times 10^{-2}$	$25,9 \times 10^{-2} \pm 12,1 \times 10^{-2}$	$21,2 \times 10^{-2} \pm 0,5 \times 10^{-2}$
60	$11,9 \times 10^{-2} \pm 0,4 \times 10^{-2}$	$24,6 \times 10^{-2} \pm 0,2 \times 10^{-2}$	$20,1 \times 10^{-2} \pm 2,1 \times 10^{-2}$
70	$13,2 \times 10^{-2} \pm 3,1 \times 10^{-2}$	$26,3 \times 10^{-2} \pm 8,7 \times 10^{-2}$	$22,4 \times 10^{-2} \pm 1,1 \times 10^{-2}$

Fonte: Autor, 2018.

Estatisticamente, ao nível de 95 % de confiança, não houve diferença significativa entre as concentrações dos compostos bioativos nas diferentes temperaturas testadas (Tabela 6). Portanto, esse material vegetal pode ser seco em temperaturas elevadas (70 °C) sem que haja danos na concentração dos principais compostos de *E. viscosa*. No entanto, de acordo com ROCHA; MELO; RADÜNZ (2011), temperaturas do ar de secagem entre 50 e 60 °C são mais viáveis para a secagem de um grande número de plantas medicinais, sem que suas características funcionais sejam alteradas.

Tabela 6 – Análise estatística da concentração dos compostos bioativos extraídos do chá dos capítulos florais de *E. viscosa* após o processo de secagem, ao nível de 95 % de confiança.

Composto	Valor-F	Valor-p	F crítico
Ternatina	0,094	0,773	
Lactona	1,870	0,243	7,708
Ácido centipédico	0,153	0,715	

Fonte: Autor, 2018.

4.2 Extração dos compostos bioativos de *E. viscosa*

4.2.1 Testes preliminares de extração

Os testes preliminares foram divididos em duas etapas. Na Tabela 7, estão expostos os rendimentos dos extratos em % e em g.K⁻¹, calculados a partir da equação 6, para a primeira etapa das extrações.

Tabela 5 – Rendimento do extrato bruto seco obtido na primeira etapa dos testes preliminares das extrações dos capítulos florais de *E. viscosa*.

	Método/solvente	Rendimento	
		(%)	g.Kg ⁻¹
SOXHLET	Hexano	2,35	23,5
	Clorofórmio	4,38	43,8
	Acetato de etila	1,69	16,9
	Metanol	4,74	47,4
PLE	Hexano	3,99	40,99
	Clorofórmio	3,91	40,08
	Acetato de etila	0,74	7,60
	Metanol	5,89	60,38
EFS	100% CO ₂	5,75	52,27
	CO ₂ + EtOH	4,27	38,82

Fonte: Autor, 2018.

Nota-se que, dentre as técnicas de extração testadas, a extração em PLE forneceu maiores rendimentos em g de extrato por Kg de capítulos florais. Em relação a seletividade dos solventes, observa-se maior rendimento na extração com o solvente metanol, devido sua afinidade por compostos polares, os quais são os compostos em maior quantidade nos capítulos florais de *E. viscosa*. Portanto, a técnica de extração PLE foi mantida na segunda etapa das extrações, assim como a extração convencional Soxhlet, e os solventes clorofórmio e acetato de etila. No entanto, o solvente etanol foi utilizado nessa etapa, a fim de averiguar a sua seletividade, em substituição ao solvente metanol. Já que este não é recomendado para o consumo humano em períodos de exposição prolongada (BARBOSA *et al.*, 2014). Na Tabela 8, estão expostos os rendimentos dos extratos obtidos na segunda etapa dos testes preliminares.

Tabela 6 – Rendimento do extrato bruto seco obtido na segunda etapa dos testes preliminares das extrações dos capítulos florais de *E. viscosa*.

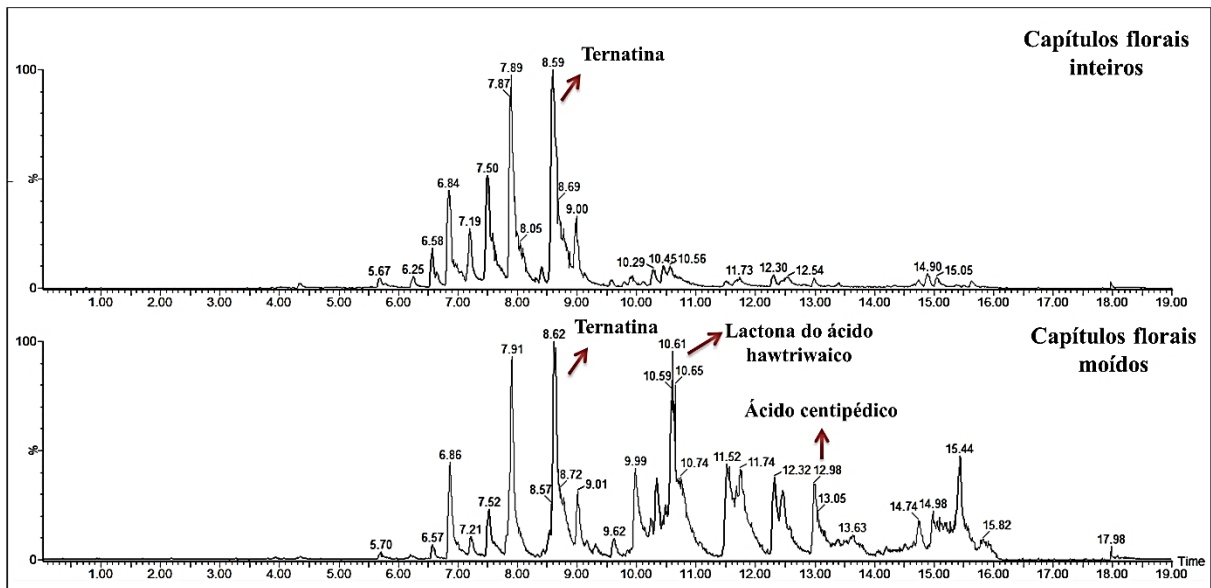
	Método/Solvente	Rendimento	
		(%)	g.Kg ⁻¹
SOXHLET	Clorofórmio	12,32	123,90
	Acetato de etila	11,16	111,60
	Etanol	21,56	214,80
PLE	Clorofórmio	8,34	84,27
	Acetato de etila	8,07	81,84
	Etanol	15,33	154,78

Fonte: Autor, 2018.

Os resultados da segunda etapa (Tabela 8) revelam que o solvente etanol foi mais seletivo proporcionando rendimentos mais elevados do que os outros solventes utilizados nesta etapa. A extração em PLE forneceu rendimentos satisfatórios quando comparado a extração de referência (Soxhlet). No entanto, nota-se que em Soxhlet foi atingido desempenho maior. Essa comparação entre as técnicas também foi estudada por RODRÍGUEZ-SOLANA *et al.* (2014) ao extrair erva-doce com o solvente metanol, na qual ele observou que os maiores rendimentos de estragol foram obtidos em Soxhlet, mas a PLE foi utilizada para otimizar a extração desse composto devido as suas vantagens diante da técnica convencional (Soxhlet). A PLE é uma técnica que permite a extração mais rápida e reduz o consumo de solvente, além de proporcionar uma maior recuperação dos compostos de interesse, sendo possível realizar várias extrações consecutivas. Portanto, essas vantagens favorecem a escolha desta técnica para realizar a otimização da extração dos compostos presentes em *E. viscosa*.

Comparando-se os resultados das duas etapas dos testes preliminares, observa-se que os rendimentos obtidos na segunda etapa (Tabela 8) foram superiores aos obtidos na primeira etapa (Tabela 7), isso deve-se a modificações operacionais que foram realizadas na segunda etapa. Para a extração em Soxhlet foi ampliado o tempo de extração de 5h para 10h. Para a extração em PLE foi elevada a quantidade de ciclos de 3 para 5. Além da utilização de capítulos florais moídos na segunda etapa, que auxiliaram na passagem do solvente pelo material vegetal devido a maior área de superfície de contato entre matriz/solvente. A alteração desses parâmetros proporcionou um arraste maior das substâncias presentes na matriz vegetal. Este acontecimento pode ser observado na Figura 13, que mostra a comparação dos extratos clorofórmicos, obtidos em extração PLE, com os capítulos florais inteiros e moídos, analisados em UPLC-MS-QTOF.

Figura 13 – Cromatogramas dos extratos clorofórmicos, obtidos por extração em PLE, dos capítulos florais inteiros e moídos de *E. viscosa*.



Fonte: Autor, 2018.

4.2.2 Otimização da extração em PLE dos capítulos florais de *E. viscosa* por meio de MSR

A partir dos resultados obtidos nos testes preliminares de extração, desenvolveu-se um planejamento experimental para extração em PLE, com diferentes proporções de etanol/água a fim da máxima obtenção dos compostos fosse obtida em uma técnica de consumo reduzido de solvente e menor tempo de extração.

O planejamento experimental consistiu de 11 tratamentos, tendo como variáveis independentes, temperatura (X_1) e proporção de etanol/água (X_2) e, como variáveis dependentes, concentração de extrato bruto, ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico.

Os valores obtidos nos 11 experimentos estão apresentados na Tabela 9. Observa-se que, nas condições de elevada temperatura (X_1) e proporção de etanol (X_2), obtêm-se maior rendimento do extrato bruto e maior concentração dos compostos. Temperaturas elevadas enfraquecem as interações soluto-matriz, auxiliando na ruptura da matriz celular e facilitando a difusão das substâncias. A mistura dos solventes etanol/água e a condição subcrítica fornecida pela extração PLE, alteram a polaridade desses solventes, o que aumenta a afinidade por compostos não polares, como grande parte dos compostos presentes na matriz vegetal estudada.

Tabela 7 – Resultados obtidos para as variáveis resposta rendimento de extrato e concentração dos compostos ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico a partir da MSR aplicada para a extração em PLE.

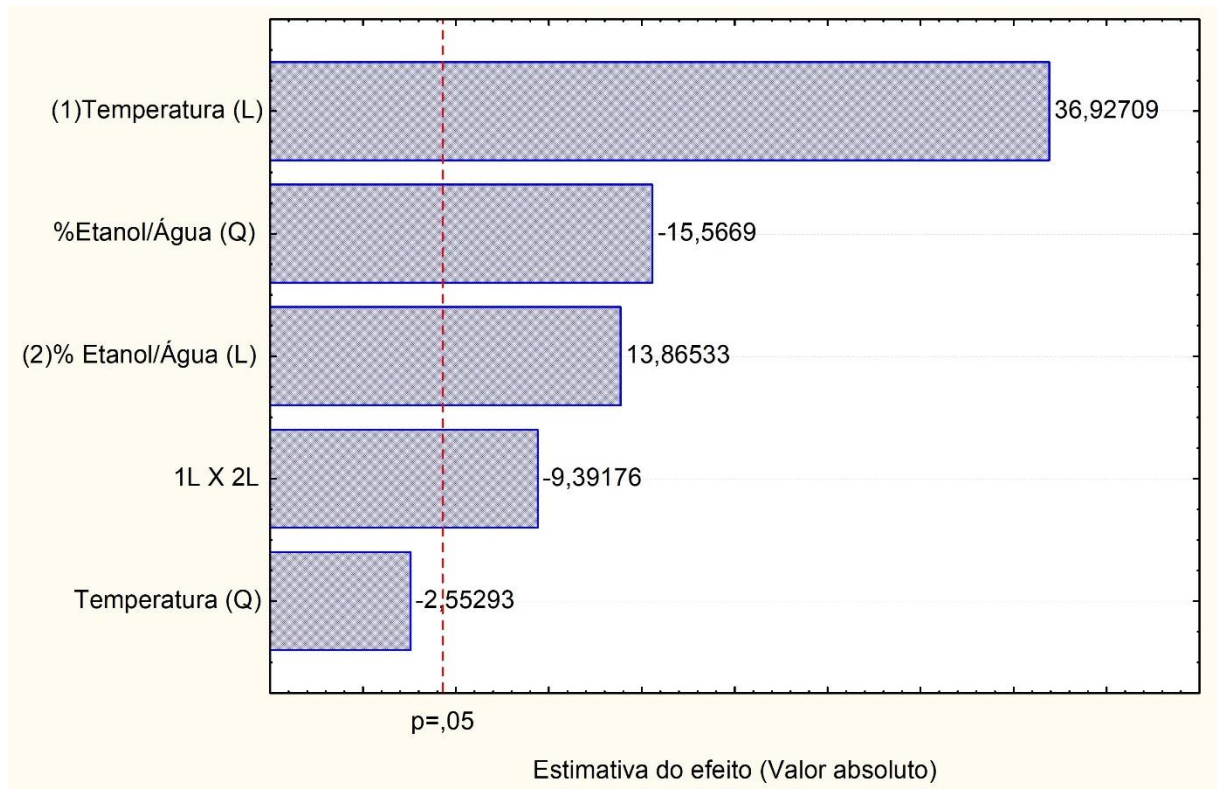
Condição	Variável		Variável codificada		Concentração (g.Kg ⁻¹)			
	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	Rendimento Extrato	Ternatina	Lactona	Ácido centipédico
1	70	20	-1	-1	122,0	0,036	0,009	0,273
2	70	80	-1	1	132,0	0,194	0,125	0,826
3	130	20	1	-1	193,3	0,051	0,222	0,975
4	130	80	1	1	166,0	0,182	0,231	1,953
5	57,6	50	- α	0	148,7	0,052	0,060	1,192
6	142,4	50	+ α	0	220,9	0,192	0,188	1,963
7	100	7,6	0	- α	129,4	0,034	0,020	0,065
8	100	92,4	0	+ α	196,7	0,123	0,273	2,187
9	100	50	0	0	178,1	0,033	0,036	1,085
10	100	50	0	0	177,2	0,035	0,017	0,457
11	100	50	0	0	181,0	0,036	0,015	0,467

Fonte: Autor, 2018.

A significância das variáveis independentes em relação as variáveis respostas da concentração dos três compostos e rendimento do extrato podem ser observadas de acordo com os gráficos de Pareto. Nas Figuras 14, 15, 16 e 17 estão representados os termos lineares e quadráticos em ordem decrescente de frequência, ou seja, os termos mais significativos para o modelo de composto central utilizado neste trabalho.

Em relação ao rendimento do extrato, observa-se na Figura 14 que apenas o termo da temperatura quadrática não foi significativo. O uso de elevadas temperaturas auxiliam no enfraquecimento das paredes da matriz celular, aumentando a solubilidade das substâncias e a difusão destas no solvente (BARBOSA *et al.*, 2014), contudo, elevadas temperaturas podem degradar compostos mais sensíveis, como os compostos fenólicos (OLIVEIRA, 2013).

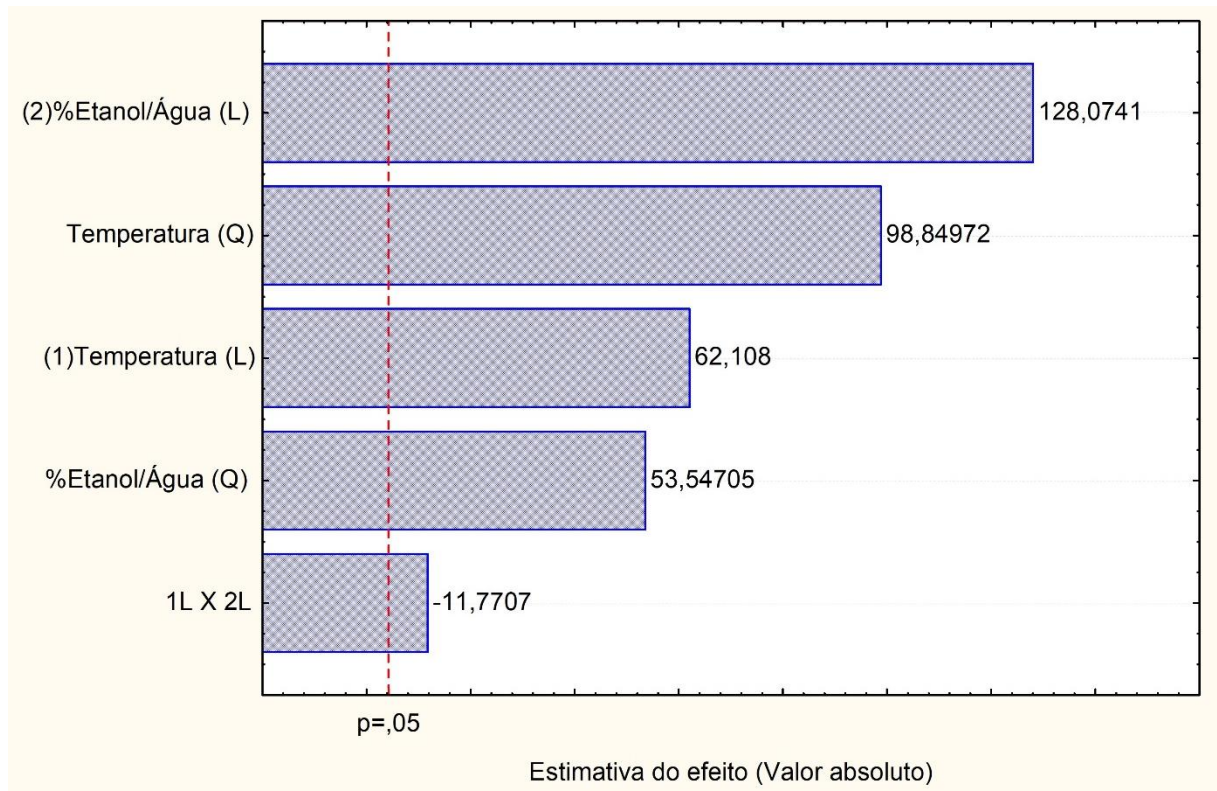
Figura 14 – Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos do rendimento do extrato, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).



Fonte: Autor, 2018.

Na obtenção do flavonóide ternatina, a Figura 15 mostra que há influência significativa de todos os termos. Esta significância deve-se a maior solubilidade da ternatina no etanol em temperaturas elevadas, o que facilita o processo de extração (DE SOUZA-SARTORI *et al.*, 2013). Outros estudos de extração de flavonóides em diferentes matrizes vegetais também revelaram a interferência do solvente etanol combinado a água na concentração desses compostos, além de verificar que a maior concentração destes é obtida em extrações com proporção de etanol em torno de 50-75 % (DE SOUZA-SARTORI *et al.*, 2013; ALARA; ABDURAHMAN; OLALERE, 2018). Tal fato também foi observado no presente trabalho, no qual a maior concentração de ternatina foi obtida com a condição 6, empregando-se 50 % de etanol/água e temperatura de 142,4 °C (Tabela 8).

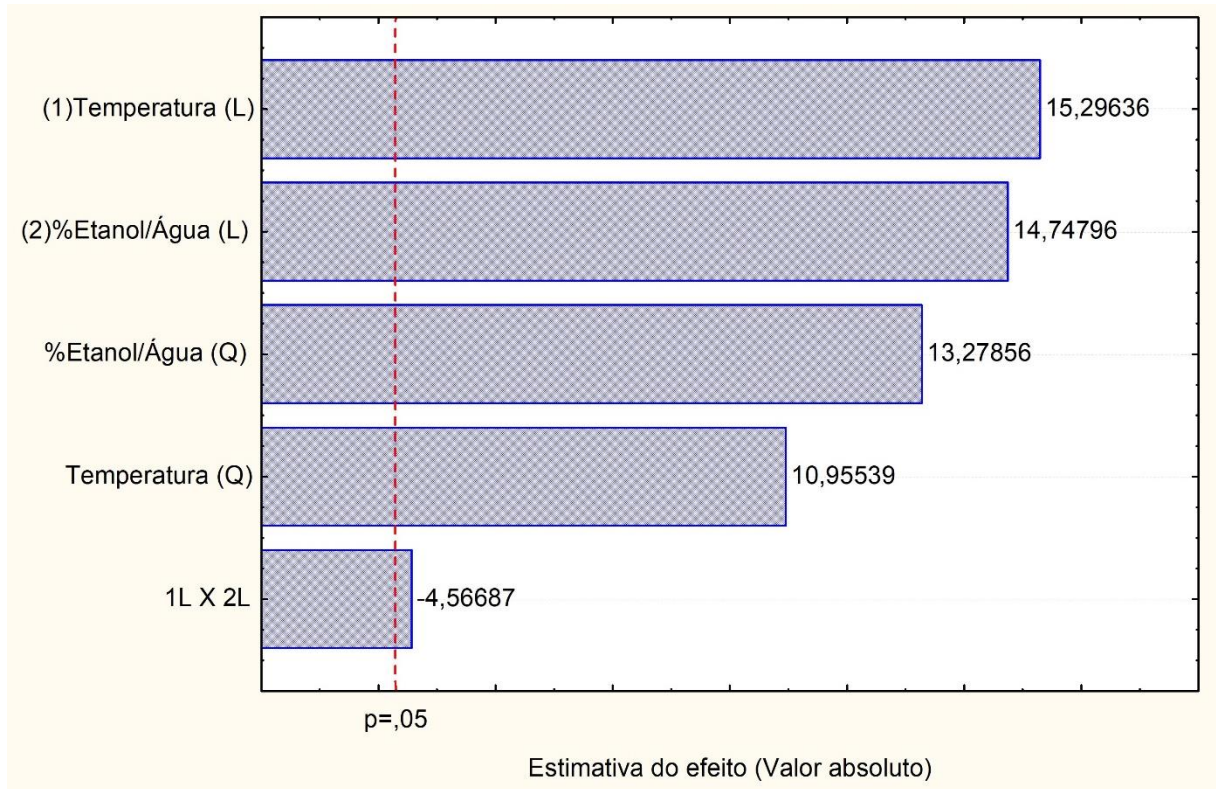
Figura 15 – Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos de ternatina, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).



Fonte: Autor, 2018.

Em relação à extração do diterpeno lactona do ácido hawtriwaico, a figura 16 mostra que todos os termos lineares e quadráticos para temperatura e proporção de etanol/água foram significativos no modelo. PÉRES *et al.* (2006), em estudo comparativo de técnicas de extração para a obtenção da máxima concentração de terpenos presentes em *Piper gaudichaudianum* Kunth, observaram que em extração com PLE e solvente etanol a 150 °C o teor máximo dos compostos terpênicos é atingido. ALAÑÓN *et al.* (2017), em extração com PLE, encontraram maior concentração de lactonas em extrato hidroalcoólico de cascas de *Quercus alba*. Estes resultados são similares aos que foram verificados no presente estudo, no qual a maior concentração de lactona foi obtida com temperatura de 100 °C e 92,4 % de etanol/água (Tabela 8).

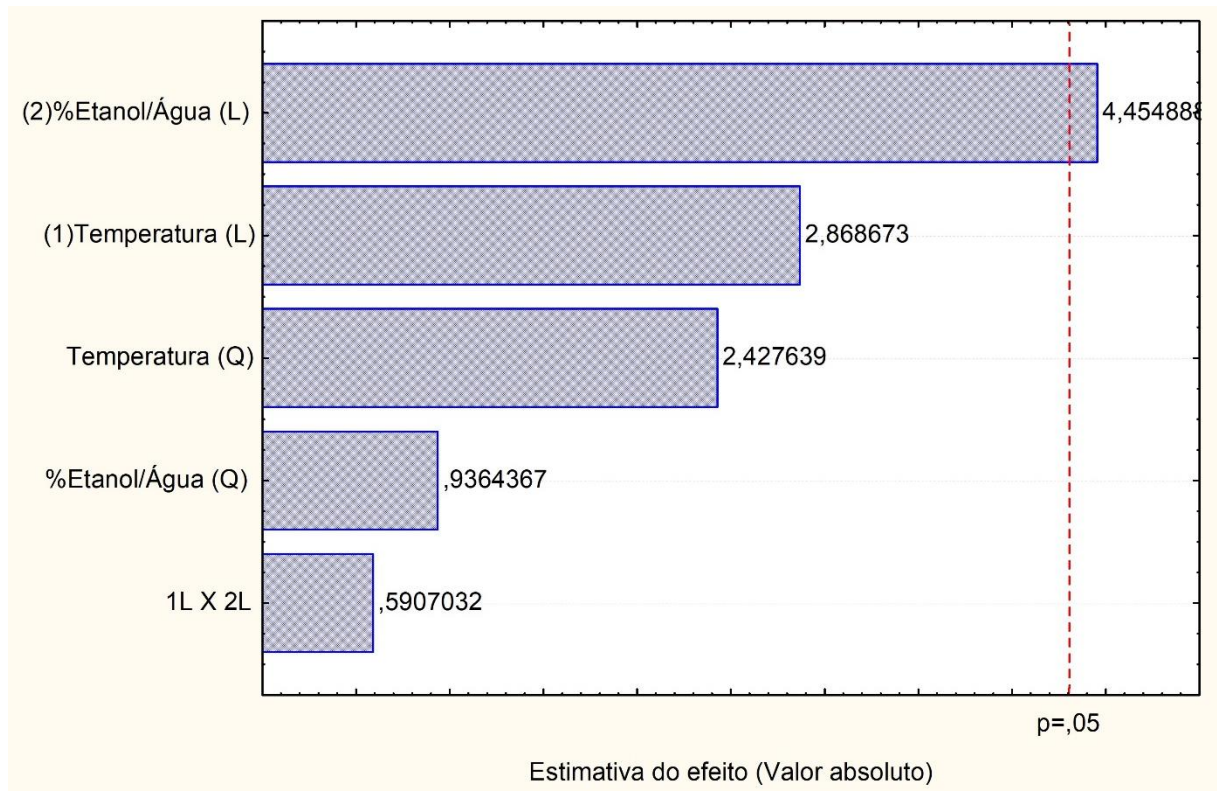
Figura 16– Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos de lactona do ácido hawtriwaico, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).



Fonte: Autor, 2018.

Para o ácido centipédico, que também é um diterpeno como a lactona do ácido hawtriwaico, foi observado que apenas a proporção de etanol/água linear foi significativa (Figura 17). A diferença de resultado entre os dois diterpenos deve-se à estrutura química deles. Como o ácido centipédico é um composto de cadeia aberta, linear e que possui em sua estrutura o grupo funcional carboxila, que realizará ligações de hidrogênio com os solventes etanol e água, há uma maior interferência das diferentes proporções de etanol/água para a concentração desse composto.

Figura 17 – Gráfico de Pareto para os termos lineares e quadráticos de ácido centipédico, gerado a partir do planejamento experimental realizado para a extração com líquido pressurizado (PLE).



Fonte: Autor, 2018.

Na Tabela 10, estão os valores de F e p para os termos lineares e quadráticos do modelo de composto central utilizado para otimizar a extração em PLE. Esses valores comprovam o que já foi discutido nos gráficos de Pareto anteriormente. De acordo com os valores de F crítico (10,128) e $p \leq 0,05$, estão demonstrados os termos significativos para o modelo de regressão para o extrato bruto e os compostos bioativos de *E. viscosa*. A variação de resposta ao modelo (R^2) revela que, para as variáveis resposta, o modelo de composto central tende a ser mais relevante para a extração de lactona do ácido hawtriwaico.

Tabela 8 – ANOVA das equações quadráticas para a extração dos compostos bioativos de *E. viscosa* em extrator líquido pressurizado (PLE).

Compostos	Fatores						
		X ₁ (Linear)	X ₁ (Quadrático)	X ₂ (Linear)	X ₂ (Quadrático)	X ₁ *X ₁	Lack of Fit
Extrato bruto	<i>F</i>	1363,61	6,52	192,25	242,33	88,21	205,53
	<i>p</i>	0,00073	0,1252	0,0051	0,0041	0,0111	0,0048
	<i>R</i> ²	0,753					
Ternatina	<i>F</i>	3857,40	9771,27	16402,97	2867,29	138,55	2211,24
	<i>p</i>	0,0002	0,0001	0,000006	0,0003	0,0071	0,0004
	<i>R</i> ²	0,822					
Lactona	<i>F</i>	233,98	120,02	217,50	176,32	20,86	23,45
	<i>p</i>	0,0042	0,0082	0,0045	0,0056	0,0447	0,0411
	<i>R</i> ²	0,906					
Ácido centipédico	<i>F</i>	8,23	5,89	19,85	0,88	0,35	1,49
	<i>p</i>	0,1030	0,1359	0,0468	0,4479	0,6145	0,4265
	<i>R</i> ²	0,841					

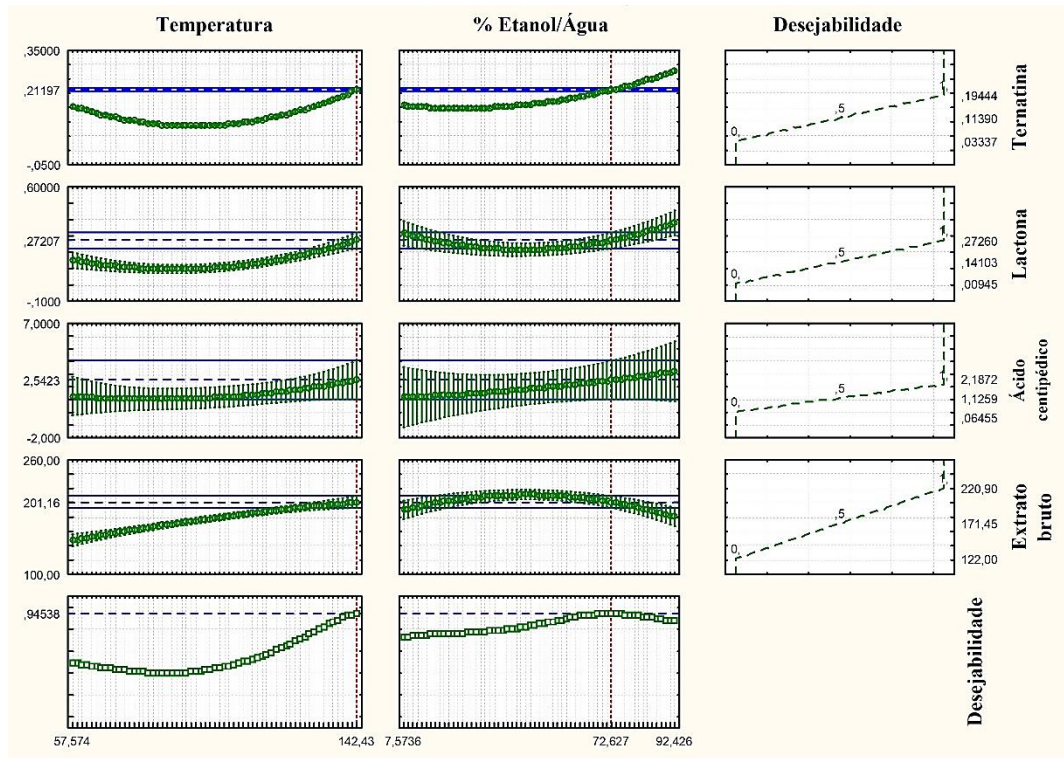
Fonte: Autor, 2018.

Para avaliar a influência das variáveis independentes, temperatura e porcentagem de etanol/água, na concentração das variáveis dependentes, ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico, foram desenvolvidos gráficos de superfície de resposta. Os apêndices E, F e G apresentam esses gráficos para as variáveis ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico, respectivamente.

4.2.2.1 Função desejabilidade aplicada ao modelo de composto central para a extração em PLE

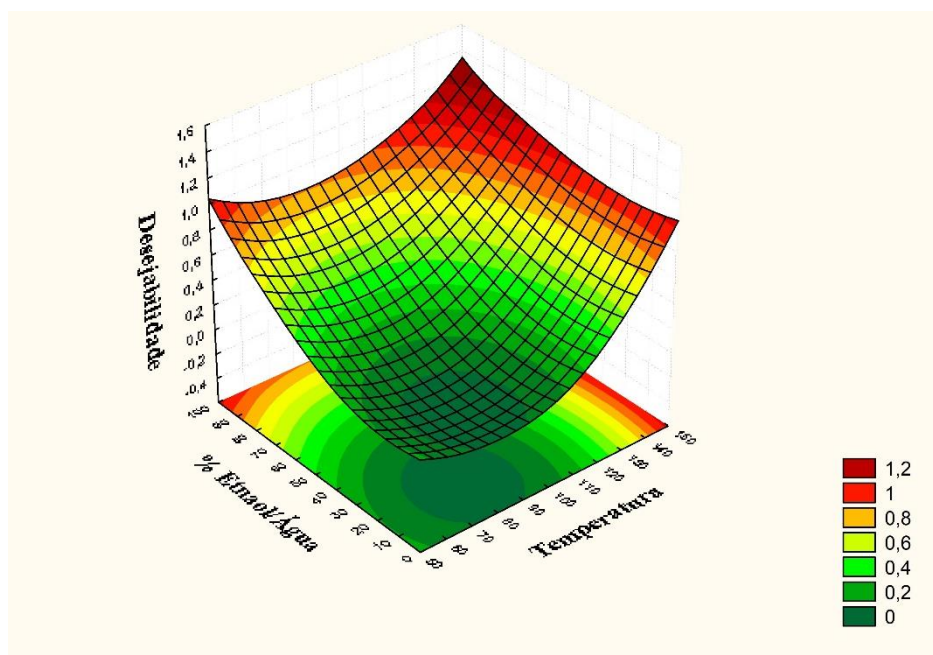
Como no presente estudo há um interesse em encontrar os valores operacionais ideais das variáveis independentes (temperatura e proporção de etanol/água) que satisfaçam simultaneamente todas as variáveis dependentes (concentração de extrato bruto, ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico), avaliou-se a função desejabilidade proposta por Derringer e Suich (1980). A figura 18 apresenta os valores dos pontos ótimos das variáveis resposta calculadas a partir do planejamento experimental: extrato bruto (220,90 g.Kg⁻¹), ternatina (0,194 g.Kg⁻¹), lactona do ácido hawtriwaico (0,272 g.Kg⁻¹) e ácido centipédico (2,18 g.Kg⁻¹), e as condições operacionais que levam ao ótimo das respostas: temperatura (142,4 °C) e proporção de etanol/água (72,6 %). O valor da função desejabilidade global é 0,945 g.Kg⁻¹. Esses valores podem ser visualizados na superfície de resposta apresentada na figura 19.

Figura 18 – Gráfico da função desejabilidade para o modelo de composto central aplicado para extração dos compostos bioativos de *E. viscosa* em PLE.



Fonte: Autor, 2018.

Figura 19 – Superfície de resposta para a função desejabilidade desenvolvida para o modelo de composto central aplicado para a extração dos compostos bioativos de *E. viscosa* em PLE.



Fonte: Autor, 2018.

De acordo com o que foi observado nos gráficos de Pareto (Figuras 14, 15, 16 e 17), com os valores operacionais das variáveis independentes das condições 6 e 8 foram alcançadas maiores concentrações das variáveis resposta. Portanto, para otimizar a extração em PLE, além das condições fornecidas pela função desejabilidade, foi realizada a repetição dos experimentos 6, com os mesmos parâmetros de temperatura (142,4 °C) e proporção de etanol/água (50 %) e 8, com os mesmos valores de temperatura (100 °C) e proporção de etanol/água (92,4 %).

Na Tabela 11, estão apresentadas as concentrações dos compostos obtidas na extração em PLE com as condições operacionais de temperatura e proporção de etanol/água das condições 6, 8 e da função desejabilidade. Avaliando cada composto individualmente, não há diferença significativa, ao nível de 95 % de confiança, nas concentrações obtidas nas condições operacionais analisadas (Tabela 12).

Tabela 9 – Valores das concentrações dos compostos bioativos de *E. viscosa* após otimização do planejamento de composto central aplicado para a extração em PLE.

	Condição operacional		Concentração (g.Kg ⁻¹)		
	Temperatura (°C)	% EtOH	Ternatina	Lactona	Ácido centipédico
Condição 6	142,4	50	0,254 ± 0,186	0,128 ± 0,099	20,055 ± 11,448
Condição 8	100	92,4	0,300 ± 0,010	0,258 ± 0,011	26,701 ± 6,703
Função desejabilidade	142,4	72	0,278 ± 0,037	0,288 ± 0,080	24,651 ± 2,032

Fonte: Autor, 2018.

Tabela 10 - Análise estatística da concentração dos compostos bioativos dos capítulos florais de *E. viscosa* após otimização do planejamento de composto central aplicado para a extração em PLE.

Composto	Valor-F	Valor-p	F crítico
Ternatina	0,134	0,877	
Lactona	3,900	0,082	5,143
Ácido centipédico	0,579	0,589	

Fonte: Autor, 2018.

4.2.2.2 Aperfeiçoamento da melhor condição operacional de extração em PLE

De acordo com os resultados obtidos para as extrações com as condições operacionais de temperatura (100 e 142,4 °C) e proporção de etanol/água (50, 72 e 92,4 %),

observou-se que, para a temperatura de 100 °C e 92,4 % de etanol, foram alcançadas concentrações mais altas dos compostos bioativos de *E. viscosa*. Diante disso, foram realizadas modificações na quantidade de ciclos e no tempo de extração para esta condição, pois esses fatores associados a temperatura influenciam na eficiência da extração (MANTOVANI, 2014).

Na Tabela 13, estão as concentrações de ternatina, lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico para a extração em PLE com temperatura de 100°C, proporção de etanol de 92,4% e com variações na quantidade de ciclos (1,2,3 e 4) e no tempo de extração (5,10,15 e 20 min). Analisando os compostos individualmente entre as condições operacionais, observa-se que ao nível de 95% de confiança, não houve diferença significativa entre as concentrações dos compostos ternatina e lactona do ácido hawtriwaico, revelando que as variações realizadas nas condições operacionais não afetaram a extração desses compostos.

No entanto, para o ácido centipédico foi constatado que a sua maior concentração foi obtida com um ciclo e 15 minutos de extração. Nota-se ainda que a variação da quantidade de ciclos não interferiu na extração desse composto, já que não houve diferença significativa nas concentrações obtidas com 5 minutos e com as diferentes quantidades de ciclos. Em relação ao tempo, quando este foi alterado entre 5 e 15 minutos, teve variações significativas, mas, com 20 minutos, não houve alteração significativa na concentração, quando comparada ao resultado para 5 minutos.

Tabela 11 – Concentração dos compostos bioativos de *E. viscosa* após extração em PLE com número de ciclos e tempos de extração diferentes.

Condições operacionais				Concentração (g.Kg ⁻¹)		
Tempo (min)	Ciclos	Temperatura (°C)	% EtOH	Ternatina	Lactona	Ácido centipédico
5	1	100	92,4	0,300 ± 0,010	0,258 ± 0,011	26,701 ± 6,703 ^{ab}
10	1	100	92,4	0,349 ± 0,167	0,284 ± 0,064	19,998 ± 3,461 ^a
15	1	100	92,4	0,345 ± 0,137	0,255 ± 0,085	37,234 ± 0,481 ^b
20	1	100	92,4	0,202 ± 0,008	0,235 ± 0,018	26,802 ± 3,574 ^{ab}
5	2	100	92,4	0,193 ± 0,007	0,208 ± 0,016	25,374 ± 7,724 ^{ab}
5	3	100	92,4	0,194 ± 0,009	0,230 ± 0,016	22,840 ± 3,159 ^a
5	4	100	92,4	0,200 ± 0,018	0,230 ± 0,023	27,286 ± 2,944 ^{ab}

Fonte: Autor, 2018.

*Médias com letras diferentes diferem significativamente ao nível de 95% de confiança.

A comparação entre a extração com o solvente etanol/água em PLE e a extração em Soxhlet com etanol está representada na Tabela 14. Nota-se que a extração em PLE forneceu concentrações satisfatórias em relação aos valores encontrados em Soxhlet. Com exceção da ternatina, a PLE proporcionou maiores rendimentos dos compostos de interesse. Portanto, a PLE é uma técnica adequada para a obtenção dos compostos bioativos de *E. viscosa*, já que

neste método há a possibilidade de combinar solventes, como o etanol e a água, que são acessíveis industrialmente e que não são prejudiciais ao consumo humano, além do resultado final ser alcançado em curto tempo de extração (15 minutos).

Tabela 12 – Comparação entre as técnicas de extração em Soxhlet e PLE com os solventes etanol PA e 92,4 % etanol/água (v/v), respectivamente para a obtenção dos compostos bioativos de *E. vicosa*.

EXTRAÇÃO	Concentração (g.Kg⁻¹)		
	Ternatina	Lactona	Ácido centipédico
Soxhlet	0,538 ± 0,66	0,036 ± 0,02	2,04 ± 1,33
PLE	0,345 ± 0,13	0,255 ± 0,08	37,234 ± 0,48

Fonte: Autor, 2018.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados, pode-se concluir que para a secagem dos capítulos florais de *E. viscosa* não houve diferença significativa entre as concentrações dos compostos bioativos nas diferentes temperaturas testadas, portanto, este material vegetal pode ser seco a temperaturas elevadas (70 °C) sem que haja degradação dos seus compostos. O ajuste dos dados experimentais (94 %) e a energia de ativação (45,14 KJ/mol) para o processo foram satisfatórios, embora o modelo utilizado tenha sido simplista para a complexa superfície do material.

A PLE forneceu concentrações satisfatórias, para os compostos de interesse, em relação aos valores encontrados em Soxhlet, com exceção da ternatina. Portanto, a PLE mostrou-se promissora, estabelecendo parâmetros operacionais nos quais a máxima extração de lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico foi observada. A extração dos compostos de interesse foi afetada pela temperatura e pelo tempo de extração, mas principalmente pela proporção dos solventes etanol/água. Especificamente, o aumento da proporção do etanol no processo melhorou a eficiência de extração desses compostos. Os melhores resultados para a extração dessas substâncias foram com 92,4 % de etanol/água (v/v), 100 °C, um ciclo e 15 minutos de extração.

REFERÊNCIAS

- ALAHÓN, M. E.; ALARCÓN, M.; MARCHANTE, L.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; PÉREZ-COELLO, M. S. Extraction of natural flavorings with antioxidant capacity from cooperage by-products by green extraction procedure with subcritical fluids. **Industrial Crops and Products**, v. 103, n. December 2016, p. 222–232, 2017.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; OLALERE, O. A. Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using response surface methodology. **Food and Bioproducts Processing**, v. 107, p. 36–48, 2018.
- AMBROSIO, S. R.; TIRAPELLI, C. R.; FERNANDO, B.; OLIVEIRA, A. M. De. Kaurane and pimarane-type diterpenes from the *Viguiera* species inhibit vascular smooth muscle contractility. v. 79, p. 925–933, 2006.
- AMER, B. M. A.; GOTTSCHALK, K.; HOSSAIN, M. A. Integrated Hybrid Solar Drying System and its Drying Kinetics of Chamomile. **Renewable Energy**, 2018.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos-uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- ANVISA. **Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira (MFFB)**. [s.l.: s.n.].
- ARGYROPOULOS, D.; MÜLLER, J. Changes of essential oil content and composition during convective drying of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 118–124, 2014.
- AYADI, M.; MABROUK, S. Ben; ZOUARI, I.; BELLAGI, A. Kinetic study of the convective drying of spearmint. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 13, n. 1, p. 1–7, 2014.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials : A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.
- BARBA, F. J.; GRIMI, N.; VOROBIEV, E. New Approaches for the Use of Non-conventional Cell Disruption Technologies to Extract Potential Food Additives and Nutraceuticals from Microalgae. **Food Engineering Reviews**, v. 7, n. 1, p. 45–62, 2014.
- BARBOSA, N. A.; CRISTINA, M.; PAES, D.; PEREIRA, J. Influencia da temperatura e do solvente na obtenção de extrato de milho de grãos pretos . n. 1, p. 1841–1845, 2014.
- BATISTA, J. M. M.; TORRES, D. C.; JORGE, D. M. de M.; SOARES, C. E. A.; BEZERRA, W. M.; SILVEIRA, E. R.; GRANGEIRO, T. B. Molecular identification and phylogenetic analysis of *Egletes viscosa* (L.) Less., a traditional medicinal plant from Northeastern Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 5, p. 818–824, 2012.
- BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008.
- BHARDWAJ, A. K.; CHAUHAN, R.; KUMAR, R.; SETHI, M.; RANA, A. Experimental investigation of an indirect solar dryer integrated with phase change material for drying valeriana jatamansi (medicinal herb). **Case Studies in Thermal Engineering**, v. 10, n. July,

p. 302–314, 2017.

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, n. March, p. 57–65, 2017.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003. 260p.

CALOU, I. B. F.; SOUSA, D. I. M.; DE ANDRADE CUNHA, G. M.; DE CASTRO BRITO, G. A.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. Topically applied diterpenoids from *Egletes viscosa* (Asteraceae) attenuate the dermal inflammation in mouse ear induced by tetradecanoylphorbol 13-acetate-and oxazolone. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 8, p. 1511–1516, 2008.

CHEEMA, J.; FARALDOS, J. A.; MAILLE, P. E. O. REVIEW : Epistasis and dominance in the emergence of catalytic function as exemplified by the evolution of plant terpene synthases. **Plant Science**, v. 255, p. 29–38, 2017.

CHEMAT, F.; FABIANO-TIXIER, A. S.; VIAN, M. A.; ALLAF, T.; VOROBIEV, E. Solvent-free extraction of food and natural products. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 157–168, 2015.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540–560, 2017.

CHEN, L.; MA, Y.; GUO, Y.; ZHANG, C.; LIANG, Z.; ZHANG, X. Quantifying the effects of operational parameters on the counting efficiency of a condensation particle counter using response surface Design of Experiments (DoE). **Journal of Aerosol Science**, v. 106, n. December 2016, p. 11–23, 2017.

CHO, S.-K.; ABD EL-ATY, A. M.; CHOI, J.-H.; JEONG, Y.-M.; SHIN, H.-C.; CHANG, B.-J.; LEE, C.; SHIM, J.-H. Effectiveness of Pressurized Liquid Extraction and Solvent Extraction for the Simultaneous Quantification of 14 Pesticide Residues in Green Tea Using GC. **Journal of Separation Science**, v. 31, n. 10, p. 1750–1760, jun. 2008.

CORRÊA, P. C.; RESENDE, O.; MARTINAZZO, A. Modelagem matemática para a descrição do processo de secagem do feijão (*phaseolus vulgaris* l.) em camadas delgadas. **Eng. Agríc., Jaboticabal**, v. 27, n. 2, p. 501–510, 2007.

CRESPO, J. G.; BRAZINHA, C. Membrane processing: Natural antioxidants from winemaking by-products. **Filtration and Separation**, v. 47, n. 2, p. 32–35, 2010.

CRUZ, P. N.; PEREIRA, T. C. S.; GUINDANI, C.; OLIVEIRA, D. A.; ROSSI, M. J.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and Antibacterial Potential of *Butia* (*Butia Catarinensis*) Seed Extracts Obtained by Supercritical Fluid Extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 229–237, jan. 2017.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010.

DE AQUINO, P. E. A.; PEREIRA, N. L. F.; FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, S. S.; LEANDRO, L. M. G.; SOUZA, J. C. C. O.; OLIVEIRA, C. D. de M.; SANTANA, J. K. L.;

- TORRES, C. M. G.; SILVA, M. R.; COUTINHO, H. D. de M.; MATIAS, E. F. F. The association between drugs and herbal products: In vitro enhancement of the antibiotic activity by extracts of dry floral buttons of *Egletes viscosa* L. (macela). **European Journal of Integrative Medicine**, v. 7, n. 3, p. 258–262, 2015.
- DE RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W. M. A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U. A. T. Analytical separation and detection methods for flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 1112, n. 1–2, p. 31–63, 2006.
- DE SOUZA-SARTORI, J. A.; SCALISE, C.; BAPTISTA, A. S.; LIMA, R. B.; DE AGUIAR, C. L. Parameters of influence on extraction of phenolic compounds from sugarcane tops with total antioxidant activity | Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 2, p. 297–307, 2013.
- FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E. M.; CANHOS, D. A. L.; CARVALHO, A. A.; COELHO, M. A. N.; COSTA, A. F.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M. G.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; LUGHADHA, E. N.; MAIA, L. C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, S.; SOUZA, V. C.; STEHMANN, J. R.; SYLVESTRE, L. S.; WALTER, B. M. T.; ZAPPI, D. C. New Brazilian Floristic List Highlights Conservation Challenges. **BioScience**, v. 62, n. 1, p. 39–45, 2012.
- FUDHOLI, A.; SOPIAN, K.; RUSLAN, M. H.; ALGHOUL, M. A.; SULAIMAN, M. Y. Review of solar dryers for agricultural and marine products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 1–30, 2010.
- GALLO, M.; FORMATO, A.; IANNIELLO, D.; ANDOLFI, A.; CONTE, E.; CIARAVOLO, M.; VARCHETTA, V.; NAVIGLIO, D. Supercritical fluid extraction of pyrethrins from pyrethrum flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) compared to traditional maceration and cyclic pressurization extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 104–112, 2017.
- GAVAHIAN, M.; FARAHNAKY, A.; JAVIDNIA, K.; MAJZOBI, M. Comparison of Ohmic-Assisted Hydrodistillation with Traditional Hydrodistillation for the Extraction of Essential Oils from *Thymus Vulgaris* L. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 14, p. 85–91, abr. 2012.
- GONELI, A. L. D.; CORRÊA, P. C.; RESENDE, O.; REIS NETO, S. A. dos. Estudo da difusão de umidade em grãos de trigo durante a secagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 135–140, 2007.
- GONELI, A. L. D.; NASU, A. K.; GANCEDO, R.; ARAÚJO, W. D.; SARATH, K. L. L. Cinética de secagem de folhas de erva baleeira (*Cordia verbenacea* DC.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2 SUPPL. 1, p. 434–443, 2014a.
- GONELI, A. L. D.; NASU, A. K.; GANCEDO, R.; ARAÚJO, W. D.; SARATH, K. L. L. Drying kinetics of *Cordia verbenacea* DC. leaves. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 434–443, 2014b.
- GUEDES, M. M.; ARVALHO, S. C.; IMA, F. L.; DE, S. R. Gastroprotective Mechanisms of Centipedic Acid, a Natural Diterpene from *Egletes viscosa* L. **ESS**, v. 31, n. 7, p. 1351–1355, 2008a.
- GUEDES, M. M.; CUNHA, A. N.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. Antinociceptive and Gastroprotective Effects of Diterpenes from the Flower Buds of *Egletes viscosa*. v. 68, p.

1044–1046, 2002.

GUEDES, M. M.; DA SILVA CARVALHO, A. C.; LIMA, A. F.; DE SOUSA LIRA, S. R.; DE QUEIROZ, S. S.; SILVEIRA, E. R.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Gastroprotective mechanisms of centipedic acid, a natural diterpene from *Egletes viscosa* LESS. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 7, p. 1351–1355, 2008b.

GUIMARÃES, S. B., SANTOS, J. M. V., ARAGÃO, A. A., KIMURA, O. S., VASCONCELOS, E. R. S., VASCONCELOS, P. R. L. Ternatin pretreatment attenuates testicular injury induced by torsion/detorsion in Wistar rats. v. 26, n. 4, p. 325–328, 2011.

HARBOURNE, N.; MARETE, E.; JACQUIER, J. C.; O'RIORDAN, D. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 9, p. 1468–1473, 2009.

HATTORI, E. K. O.; NAKAJIMA, J. N. A família asteraceae na estação de pesquisa e desenvolvimento ambiental galheiro, perdizes, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, p. 687–749, 2008.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, 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.; 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.

HOSSAIN, M. B.; BARRY-RYAN, C.; MARTIN-DIANA, A. B.; BRUNTON, N. P. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, v. 123, n. 1, p. 85–91, 2010.

HOSSAIN, M. B.; BARRY-RYAN, C.; MARTIN-DIANA, A. B.; BRUNTON, N. P. Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 339–346, 2011.

HSU, H.; HSIAO, P.; KUO, T.; CHIANG, S.; CHEN, S.; CHIOU, S.; LING, X.; LIANG, M.; CHENG, W.; HOUNG, J. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Lonicera japonica* Thunb . var . *sempervillosa* Hayata flower bud extracts prepared by water , ethanol and supercritical fluid extraction techniques. **Industrial Crops & Products**, v. 89, p. 543–549, 2016.

HUANG, Z.; SHI, X.; JIANG, W. Theoretical models for supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1250, p. 2–26, 2012.

JEYARATNAM, N.; NOUR, A. H.; KANTHASAMY, R.; NOUR, A. H.; YUVARAJ, A. R.; AKINDOYO, J. O. Essential oil from *Cinnamomum cassia* bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation. **Industrial Crops and Products**, v. 92, p. 57–66, 2016.

LAU, E. V.; GAN, S.; NG, H. K. Extraction Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2010, p. 1–9, 2010.

LEMUS-MONDACA, R.; AH-HEN, K.; VEGA-GÁLVEZ, A.; HONORES, C.; MORAGA, N. O. Stevia rebaudiana Leaves: Effect of Drying Process Temperature on Bioactive Components, Antioxidant Capacity and Natural Sweeteners. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 71, n. 1, p. 49–56, 2016.

LI, W.; LIU, Z.; WANG, Z.; CHEN, L.; SUN, Y.; HOU, J.; ZHENG, Y. Application of accelerated solvent extraction to the investigation of saikosaponins from the roots of *Bupleurum falcatum*. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 12, p. 1870–1876, 2010.

LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R.; SILV, M.; MARQUES, A. L.; SANTOS, R. H. A.; GAMBARDELA, M. T. P. BIOLOGICALLY ACTIVE FLAVONOIDS AND TERPENOIDS FROM. v. 41, n. 1, p. 0–6, 1996.

LORDÊLO CARDOSO SILVA, M.; SILVA COSTA, R.; DOS SANTOS SANTANA, A.; BELLO KOBLITZ, M. G. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, 2010.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: Past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.

MACHADO, A. P. D. F.; PASQUEL-REÁTEGUI, J. L.; BARBERO, G. F.; MARTÍNEZ, J. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. **Food Research International**, v. 77, p. 675–683, 2015.

MANTOVANI, C. de C. **Uso da extração acelerada por solvente (ASE) para determinação cromatográfica de analitos de cocaína e tetraidrocannabinol em amostras de mecônio**. 2014. 112p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e análises toxicológicas)- Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade De São Paulo, 2014.

MARQUES, L. L. M.; PANIZZON, G. P.; AGUIAR, B. A. A.; SIMIONATO, A. S.; CARDOZO-FILHO, L.; ANDRADE, G.; DE OLIVEIRA, A. G.; GUEDES, T. A.; MELLO, J. C. P. de. Guaran?? (*Paullinia cupana*) seeds: Selective supercritical extraction of phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 212, p. 703–711, 2016.

MELO, C. M., MAIA, J. L., CAVALCANTE, I. J. M., LIMA, M. A. S., VIEIRA, G. A. B., SILVEIRA, E. R., RAO, V. S. N., SANTOS, F. A. 12-Acetoxyhawtriwaic Acid Lactone , a Diterpene from *Egletes viscosa* , Attenuates Capsaicin-Induced Ear Edema and Hindpaw Nociception in Mice : Possible Mechanisms. **Panta Med**, v. 72, p. 584–589, 2006.

MELO, J. U. de S.; , RADAMÉS BEZERRA MELO , JEFFERSON MENEZES VIANA SANTOS, M. M. C. J.; GUIMARÃES, S. B.; PAULO ROBERTO LEITÃO VASCONCELOS. Effects of bioflavonoid ternatin on liver regeneration and oxidative stress in rats. v. 28, n. 6, p. 435–440, 2013.

MEWALAL, R.; RAI, D. K.; KAINER, D.; CHEN, F.; KÜLHEIM, C.; PETER, G. F.; TUSKAN, G. A. Plant-Derived Terpenes : A Feedstock for Specialty. **Trends in Biotechnology**, v. 35, n. 3, p. 227–240, 2017.

MGHAZLI, S.; OUHAMMOU, M.; HIDAR, N.; LAHNINE, L.; IDLIMAM, A.; MAHROUZ, M. Drying characteristics and kinetics solar drying of Moroccan rosemary leaves. **Renewable Energy**, v. 108, p. 303–310, 2017.

MRAD, N. D.; BOUDHRIOUA, N.; KECHAOU, N.; COURTOIS, F.; BONAZZI, C. Influence of air drying temperature on kinetics, physicochemical properties, total phenolic

content and ascorbic acid of pears. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, n. 3, p. 433–441, 2012.

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.

NAVIGLIO, D.; PIZZOLONGO, F.; ROMANO, R.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, B.; SANTINI, a. An innovative solid-liquid extraction technology: use of the naviglio extractor for the production of lemon liquor. **African J. Food Sci.**, v. 1, n. 4, p. 42–50, 2007.

OLIVEIRA, D. D. S. Nova Metodologia Para Extração De Compostos Fenólicos De Vinho Tinto E Avaliação Da Estabilidade Dos Extratos Obtidos. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2013.

PEREIRA, C. de S. S.; VIEIRA, G. L.; MENDES, M. F. Avaliação de diferentes tecnologias na extração do óleo de Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L). **Revista Ciência da Vida**, p. 61–74, 2011.

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

PETACCI, F.; TAVARES, W. S.; FREITAS, S. S.; TELES, A. M.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. . Phytochemistry and quantification of polyphenols in extracts of the Asteraceae weeds from Diamantina, Minas Gerais state, Brazil. **Planta Daninha**, v. 30, n. 1, p. 9–15, 2012.

PIMENTA, C. D.; SILVA, M. B.; SALOMON, V. A. P.; PENTEADO, R. B.; GOMES, F. M. Aplicação das metodologias Desirability e Simplex para otimização das propriedades mecânicas em arames de aço temperados. **Production**, v. 25, n. 3, p. 598–610, set. 2015.

PIOVESAN, N. **Extratos naturais de sementes de mamão papaya (carica papaya l .) e marcela (achyrocline satureioides) e avaliação da capacidade antioxidante e antimicrobiana em linguça de frango**. 2012. 65p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Cebtro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

PRESTI, M. Lo; RAGUSA, S.; TROZZI, A.; DUGO, P.; VISINONI, F.; FAZIO, A.; DUGO, G.; MONDELLO, L. A comparison between different techniques for the isolation of rosemary essential oil. **Journal of Separation Science**, v. 28, n. 3, p. 273–280, 2005.

PRONYK, C.; MAZZA, G. Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 215–226, 2009.

PURANIK, V.; CHAUHAN, D. K.; MISHRA, V.; RAI, G. K. Effect of drying techniques on the physicochemical and bioactive components of selected medicinal herbs. **Annals of Phytomedicine**, v. 1, n. 2, p. 23–29, 2012.

RAO, V. S.; FIGUEIREDO, E. G.; MELO, C. L.; VIANA, G. S.; MENEZES, D. B.; MATOS, M. S.; SILVEIRA, E. R. Protective Effect of Ternatin, a Flavonoid Isolated from *EgletesViscosa* Less., in Experimental Liver Injury. **Pharmacology**, v. 48, n. 6, p. 392–397, jun. 1994.

RADÜNZ, L. L.; MELO, E. C.; ROCHA, R. P.; BARBOSA, F. F.; SANTOS, R. H. S.;

- BERBET, P. A. Avaliação das curvas de secagem de guaco (*Mikania glomerata* Spreng.) em secador de bandejas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2 SUPPL. 1, p. 378–387, 2014.
- RESENDE, O.; ULLMANN, R.; SIQUEIRA, V. C.; CHAVES, T. H.; FERREIRA, L. U. Modelagem matemática e difusividade efetiva das sementes de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) durante a secagem. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 6, p. 1123–1135, 2011.
- ROCHA, R. P.; MELO, E. C.; RADÜNZ, L. L. Influence of drying process on the quality of medicinal plants: A review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 33, p. 7076–7084, 2011.
- RODRÍGUEZ-SOLANA, R.; SALGADO, J. M.; DOMÍNGUEZ, J. M.; CORTÉS-DIÉGUEZ, S. Characterization of fennel extracts and quantification of estragole: Optimization and comparison of accelerated solvent extraction and Soxhlet techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 528–536, 2014.
- ROSELLÓ-SOTO, E.; GALANAKIS, C. M.; BRNČIĆ, M.; ORLIEN, V.; TRUJILLO, F. J.; MAWSON, R.; KNOERZER, K.; TIWARI, B. K.; BARBA, F. J. Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. **Trends in Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 134–149, 2015.
- SAHIN, S.; SAMLI, R.; BIRTEKS Z TAN, A. S.; BARBA, F. J.; CHEMAT, F.; CRAVOTTO, G.; LORENZO, J. M. Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves: Antioxidant and antimicrobial properties. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 13, 2017.
- SHI, X.-F.; CHU, J.-Z.; ZHANG, Y.-F.; LIU, C.-Q.; YAO, X.-Q. Nutritional and Active Ingredients of Medicinal Chrysanthemum Flower Heads Affected by Different Drying Methods. **Industrial Crops and Products**, v. 104, p. 45–51, out. 2017.
- SOUSA, A. D.; RIBEIRO, P. R. V.; CANUTO, K. M.; ZOCOLO, G. J.; PEREIRA, R. de C. A.; FERNANDES, F. A. N.; SOUSA DE BRITO, E. Drying kinetics and effect of air-drying temperature on chemical composition of *Phyllanthus amarus* and *Phyllanthus niruri*. **Drying Technology**, v. 3937, n. July, p. 1–8, 2017.
- SOUZA, M. F.; RAO, V. S.; SILVEIRA, E. R. Anti-Anaphylactic and Anti-Inflammatory Effects of Ternatin, a Flavonoid Isolated from *Egletes Viscosa* Less. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 25, n. 10, p. 1029–1032, 1992.
- SOUZA, M. F.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R. Inhibition of Lipid Peroxidation by Ternatin, a Tetramethoxyflavone from *Egletes Viscosa* L. **Phytomedicine**, v. 4, n. 1, p. 27–31, mar. 1997.
- SULTANA, B.; ANWAR, F.; ASHRAF, M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. **Molecules**, v. 14, n. 6, p. 2167–2180, 2009.
- SUN, H.; GE, X.; LV, Y.; WANG, A. Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. **Journal of Chromatography A**, v. 1237, p. 1–23, 2012.
- TIAN, Y.; LIIMATAINEN, J.; ALANNE, A.-L.; LINDSTEDT, A.; LIU, P.; SINKKONEN, J.; KALLIO, H.; YANG, B. Phenolic Compounds Extracted by Acidic Aqueous Ethanol from

Berries and Leaves of Different Berry Plants. **Food Chemistry**, v. 220, p. 266–281, abr. 2017.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero Baccharis (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 85–94, 2005.

VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, p. 105–113, 2015.

VIEIRA DA SILVA, B.; BARREIRA, J. C. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Natural phytochemicals and probiotics as bioactive ingredients for functional foods: Extraction, biochemistry and protected-delivery technologies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 50, p. 144–158, 2016.

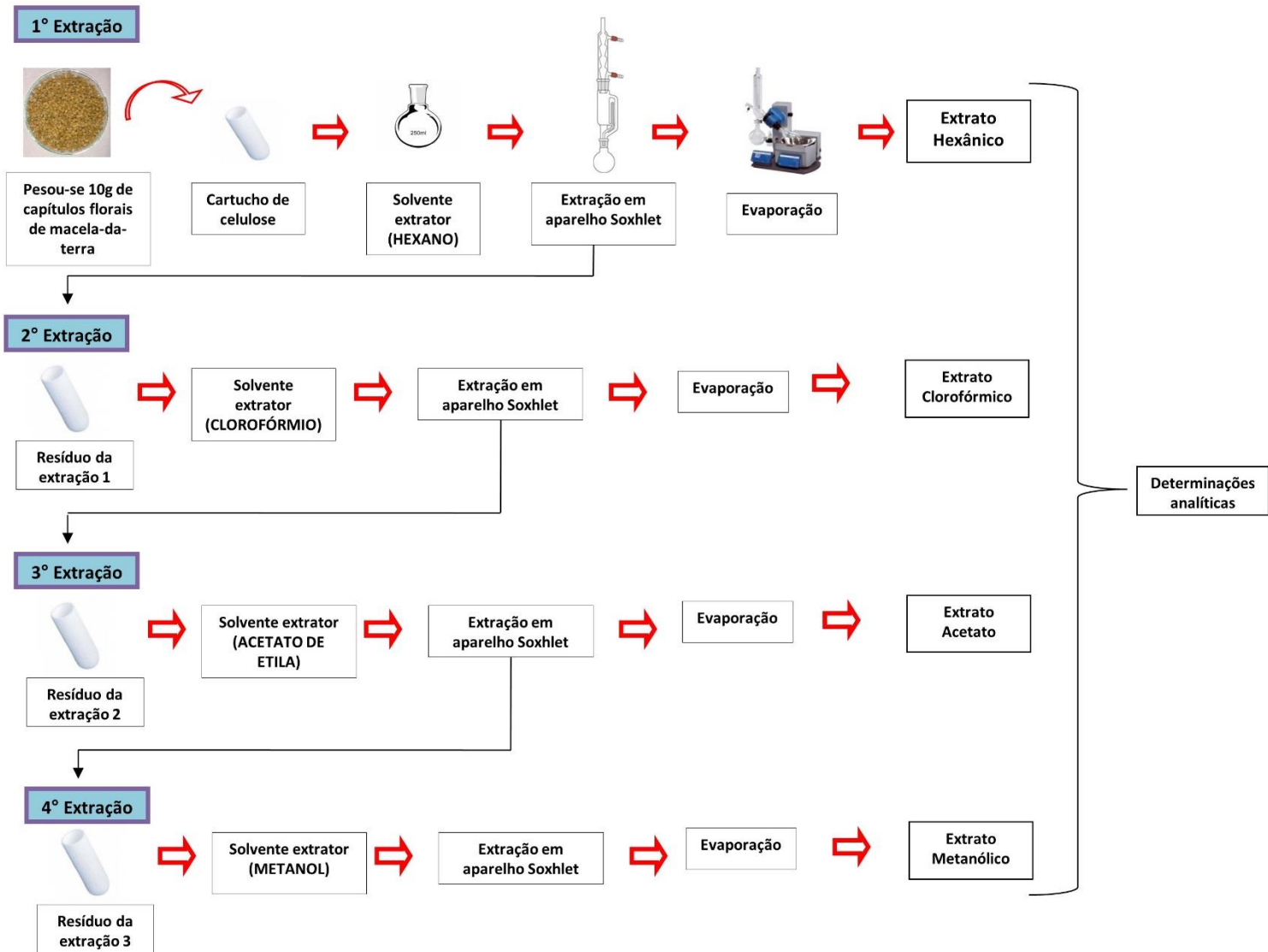
WANG, J.; WAN, W. Application of desirability function based on neural network for optimizing biohydrogen production process. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 3, p. 1253–1259, 2009.

WANG, M.; BI, W.; HUANG, X.; CHEN, D. D. Y. Ball mill assisted rapid mechanochemical extraction method for natural products from plants. **Journal of Chromatography A**, v. 1449, p. 8–16, 2016.

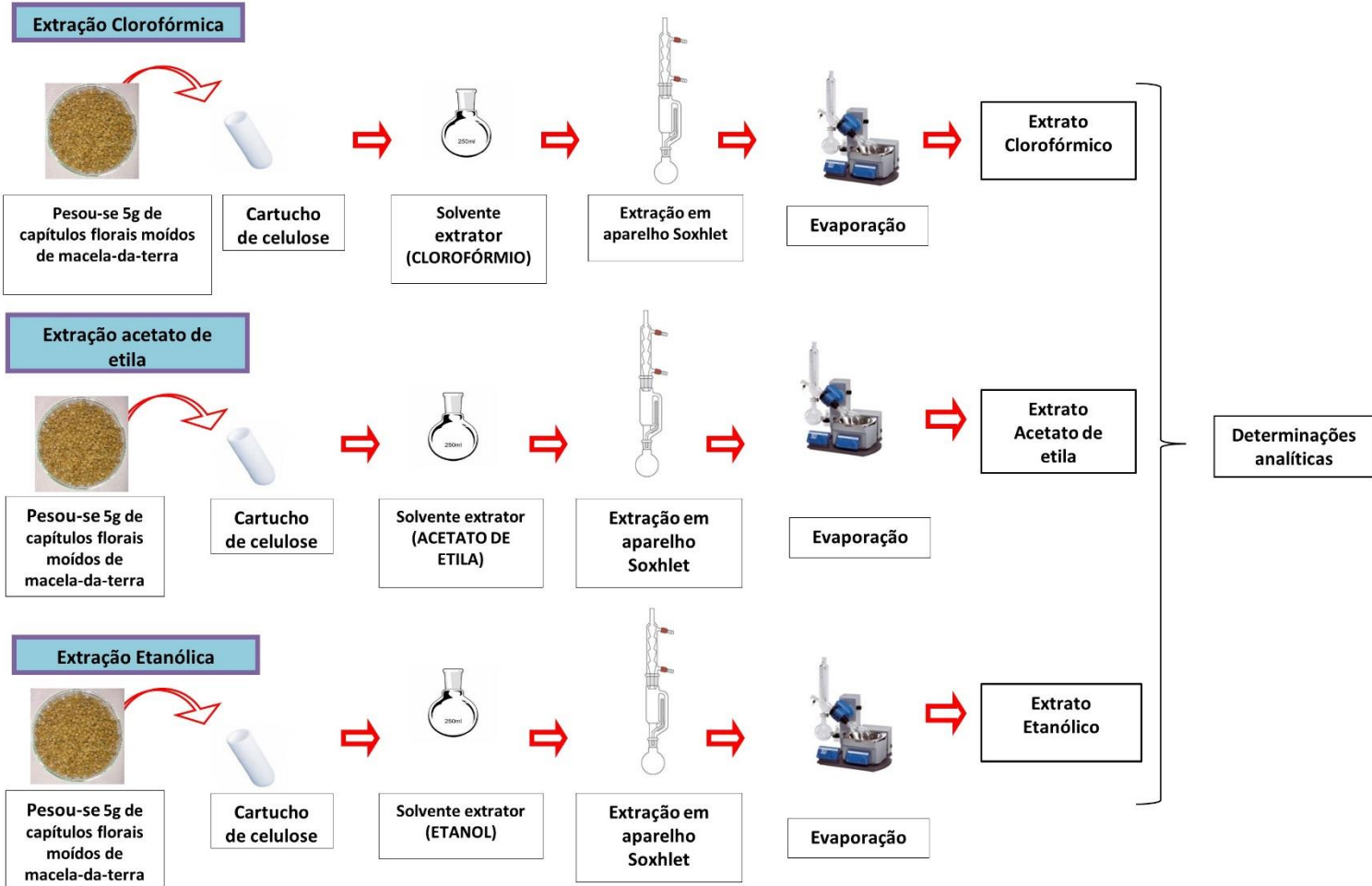
ZHAO, S.; ZHANG, D. Supercritical CO₂ extraction of Eucalyptus leaves oil and comparison with Soxhlet extraction and hydro-distillation methods. **Separation and Purification Technology**, v. 133, p. 443–451, 2014.

ZIELINSKA, M.; ROPELEWSKA, E.; MARKOWSKI, M. Thermophysical properties of raw, hot-air and microwave-vacuum dried cranberry fruits (*Vaccinium macrocarpon*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 85, p. 204–211, 2017.

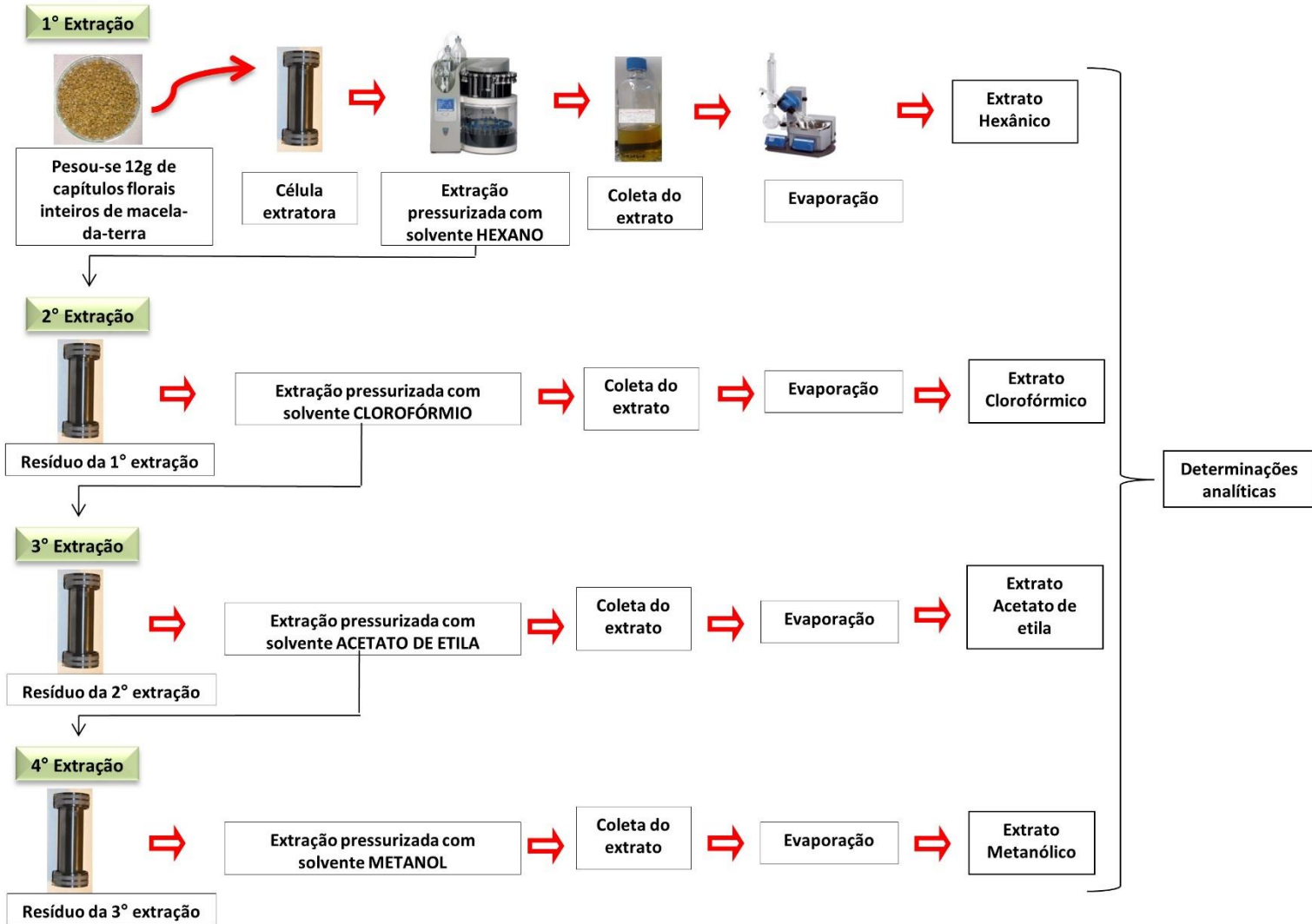
APÊNDICE A - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DA PRIMEIRA ETAPA DE EXTRAÇÃO DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE *E. VISCOSA* EM APARELHO SOXHLET.



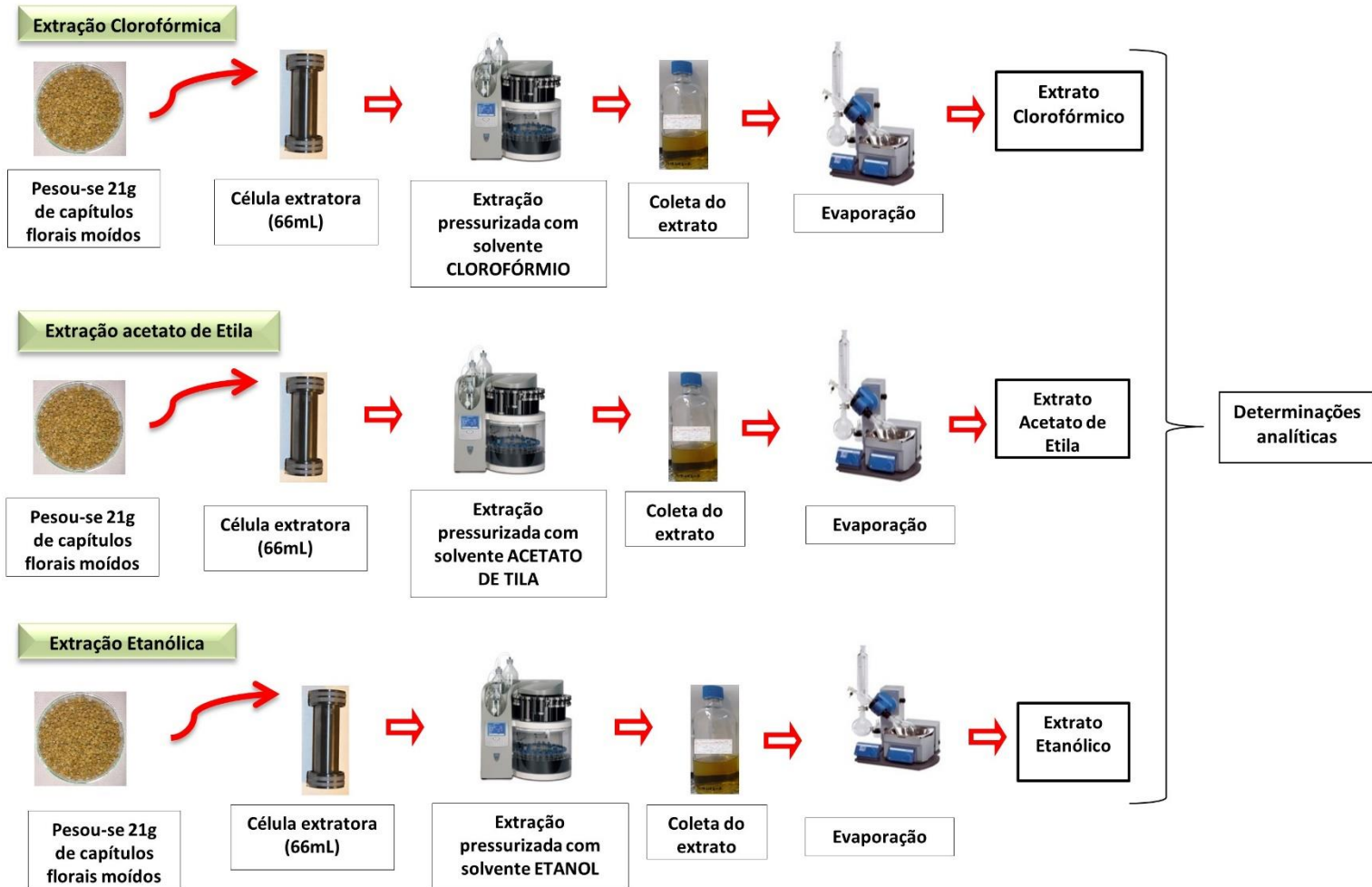
APÊNDICE B - FLUXOGRAMA DA SEGUNDA ETAPA DAS EXTRAÇÕES DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE *E. VISCOSA* EM APARELHO SOXHLET



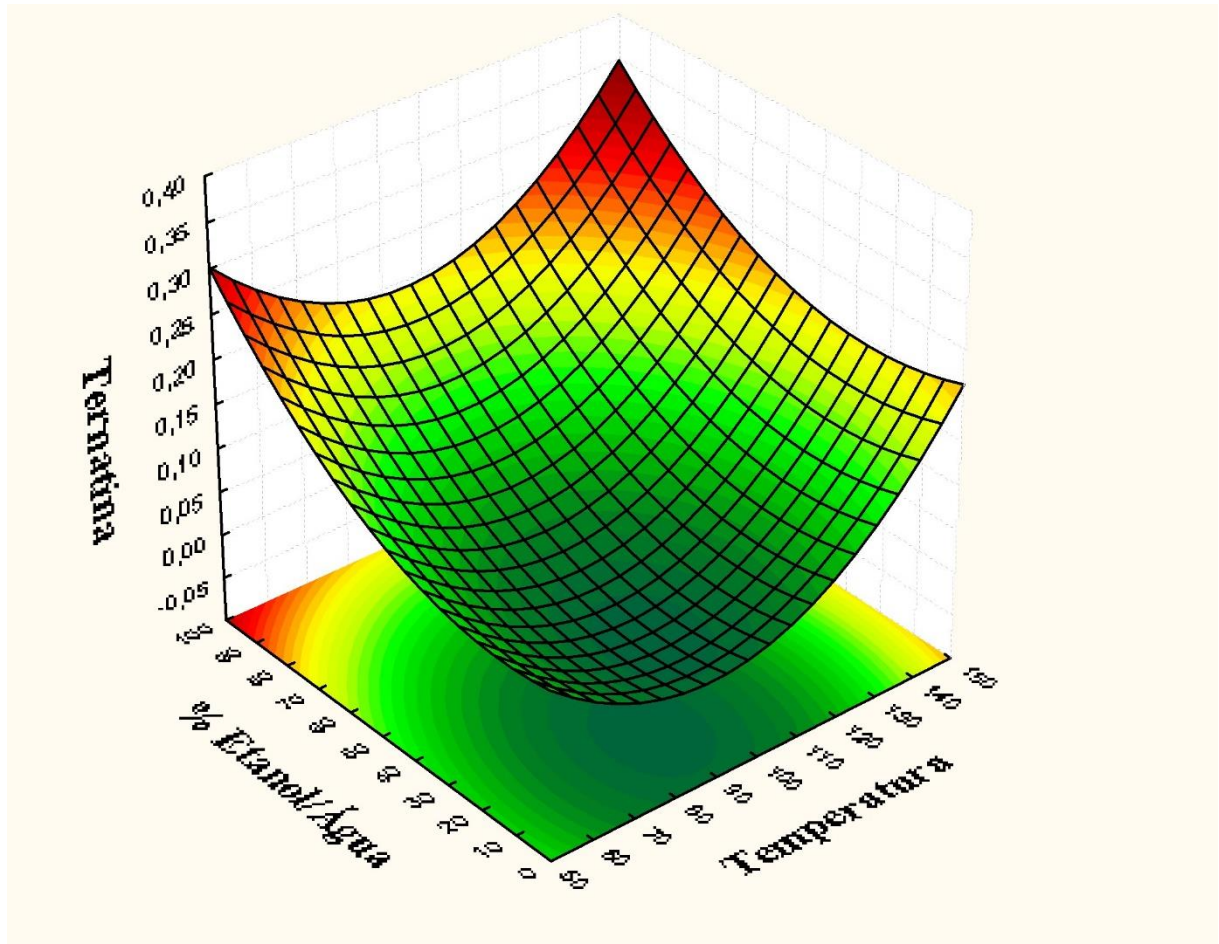
APÊNDICE C - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DA PRIMEIRA ETAPA DE EXTRAÇÃO DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE *E. VISCOSA* EM EXTRATOR DE SOLVENTE LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE).



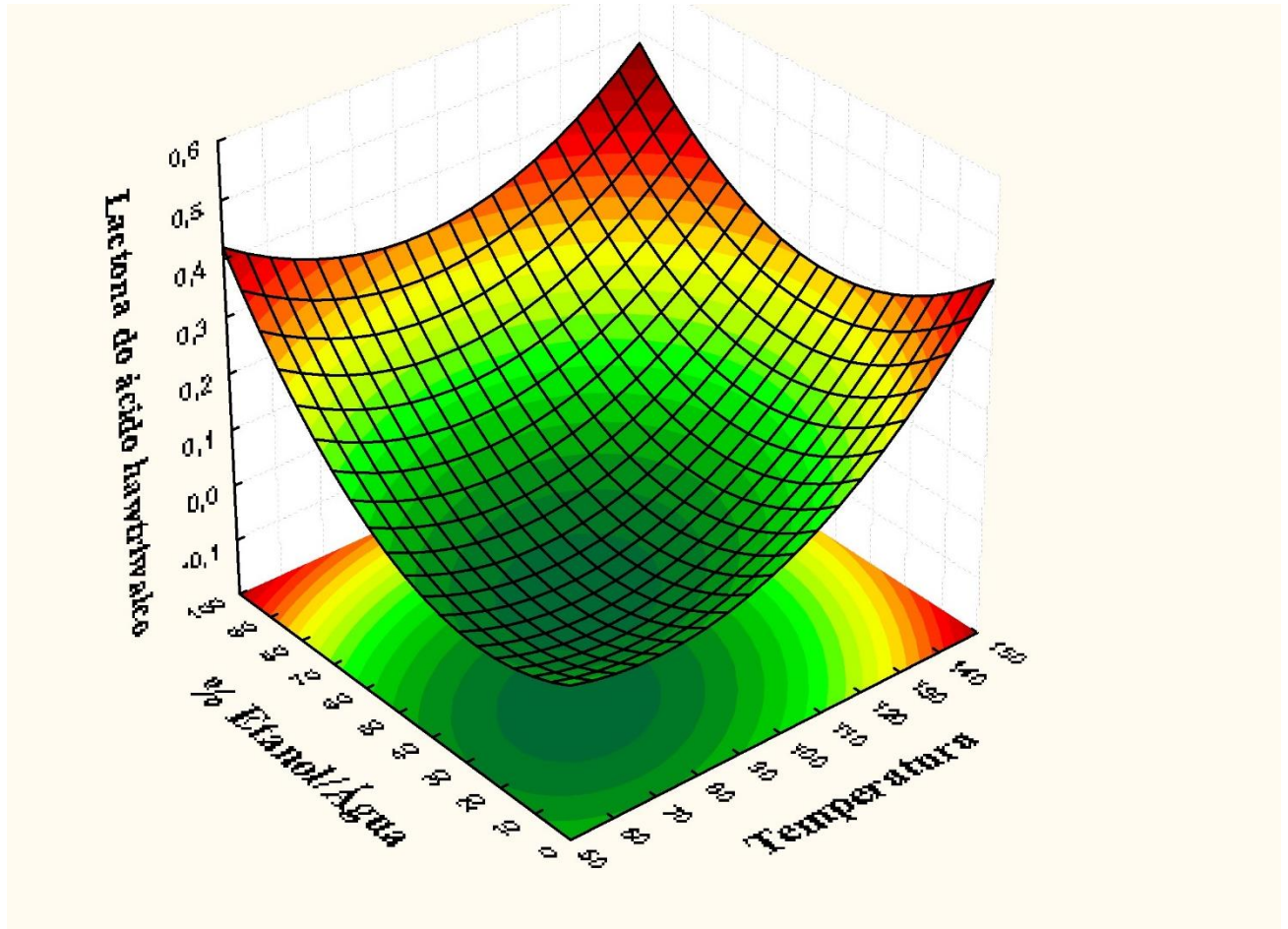
APÊNDICE D - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DA SEGUNDA ETAPA DA EXTRAÇÃO DOS CAPÍTULOS FLORAIS DE *E. VISCOSA* EM EXTRATOR DE SOLVENTE LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE).



APÊNDICE E – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA OBTIDO PARA A VARIÁVEL DEPENDENTE TERNATINA, GERADO A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO PARA A EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE).



APÊNDICE F – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA OBTIDO PARA A VARIÁVEL DEPENDENTE LACTONA DO ÁCIDO HAWTRIWAICO, GERADO A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO PARA A EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE).



APÊNDICE G – GRÁFICO DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA OBTIDO PARA A VARIÁVEL DEPENDENTE ÁCIDO CENTIPÉDICO DO ÁCIDO HAWTRIWAICO, GERADO A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL REALIZADO PARA A EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO (PLE).

