



EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA CASCA DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) COM LÍQUIDOS PRESSURIZADOS

Palavras-Chave: COMPOSTOS BIOATIVOS, MISTURA DE SOLVENTES, NOVAS TECNOLOGIAS

Autores(as):

Daniella Pacheco Castro Migués, FEA – UNICAMP

Isabela Ferreira Moreno, FEA – UNICAMP

Prof. Dr. Julian Martínez, FEA – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é um fruto nativo do cerrado brasileiro, constituído por casca, caroço, polpa e amêndoa, com grande importância na economia local. Seu processamento é predominantemente artesanal e costuma consistir na retirada do caroço, da polpa com o uso de facas e na extração de óleo da polpa, feita principalmente por cozimento em água (MACIEL et al., 2018). A amêndoa também pode ser extraída, apesar de geralmente ser tratada como resíduo devido ao grande número de espinhos que a envolvem (MACIEL et al., 2018; PAULA et al., 2022). Em razão de suas propriedades químicas e aroma característico, a polpa do pequi vem sendo utilizada industrialmente na área cosmética para produção de sabonetes e cremes e na área alimentícia para a produção de novos alimentos (PAULA et al., 2022).

O restante do fruto, muitas vezes, acaba sendo descartado, o que aumenta a quantidade de resíduos do processamento que poderiam estar sendo aproveitados (MACIEL et al., 2018). A casca do pequi, por exemplo, corresponde a cerca de 76% do fruto e é rica em fibras alimentares e compostos com propriedades bioativas como fenólicos e carotenoides, tendo a capacidade de ser explorada e utilizada como fonte de alimentos funcionais (CANGUSSU et al., 2021; VERA et al., 2005).

A extração com líquidos pressurizados (PLE – *Pressurized Liquid Extraction*) é uma técnica eficiente para a obtenção de compostos bioativos e versátil devido à sua capacidade de empregar uma ampla variedade de solventes (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020; MUSTAFA; TURNER, 2011). Essa diversidade de solventes permite o uso de substâncias geralmente reconhecidas como seguras (GRAS), tais como água, etanol, acetato de etila, lactato de etila ou d-limoneno, conhecidas como opções ecológicas (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020).

A PLE utiliza solventes em altas temperaturas e pressões, mas permanecendo abaixo do ponto crítico para que estes se mantenham no estado líquido (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020). O uso de altas temperaturas altera as propriedades do solvente, permitindo uma transferência de massa mais rápida e eficiente. A tensão superficial do solvente diminui, facilitando a sua penetração na matriz e aumentando a área de contato com os compostos de interesse. Além disso, o aumento da temperatura provoca a diminuição da viscosidade, permitindo uma maior mobilidade das moléculas do solvente e dos compostos de interesse. A desorção dos compostos da matriz é facilitada pelo rompimento das interações intermoleculares que os ligam (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020).

Em relação ao solvente, estudos mostram que o uso de misturas de solvente em processos de extração pode ser importante para melhorar a eficiência global (MUSTAFA; TURNER, 2011). Em uma mistura de dois solventes, um deles pode aumentar a solubilidade dos compostos de interesse, enquanto o outro pode facilitar a sua dessorção (VIGANÓ et al., 2016). Nesse contexto, a presença de água é frequentemente benéfica, pois auxilia na quebra da matriz e das ligações matriz-soluto, como as ligações de hidrogênio (MUSTAFA; TURNER, 2011). Diversos estudos apontam o uso de mistura de etanol e água como solvente, de forma que o etanol consegue dissolver compostos moderadamente polares, enquanto a água é capaz de solubilizar aqueles de alta polaridade (BARRALES et al., 2018).

Logo, tendo em vista o potencial da casca do pequi como matéria-prima e da PLE para a extração de compostos dessa casca, o objetivo deste trabalho foi a extração de compostos fenólicos presentes na casca de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) com o uso de PLE em diferentes temperaturas e concentrações de etanol em água como solvente.

METODOLOGIA:

O preparo das cascas de pequi seguiu a metodologia de Leão et al. (2017). Primeiramente as cascas foram lavadas, descascadas e branqueadas. Posteriormente, foram secas em forno de circulação de ar (modelo 320 SE, Fanem, SP - Brasil) a 50 °C por 24h, trituradas em um moinho de facas (modelo MA 340, Marconi, SP – Brasil) e peneiradas em peneiras de 1,0 mm. Para que os compostos presentes na amostra não fossem degradados até as extrações, a amostra foi armazenada em frascos herméticos e protegidos da luz a -18 °C.

Extração com líquidos pressurizados (PLE – Pressurized Liquid Extraction)

A PLE foi realizada na unidade multipropósito desenvolvida no LAPEA seguindo a metodologia descrita por Viganó et al. (2016), com modificações. As temperaturas utilizadas foram de 60, 85 e 110 °C e os percentuais de etanol em água no solvente foram de 50, 75 e 100% (v/v). A pressão foi de 10,0 ± 0,5 MPa e a vazão de solvente permaneceu constante em aproximadamente 5 g/min. Foram utilizados cerca de 3 g de amostra, adicionadas à célula de extração. Os experimentos foram feitos em modo cinético, com 10 minutos de tempo estático e 90 minutos de tempo dinâmico, sendo executados em duplicata, totalizando 18 extrações.

Rendimento global (X₀)

Os rendimentos globais (X₀) foram calculados conforme a Equação (1) usando a massa de extrato (m ext), o volume total do extrato (V ext) e a massa de casca de pequi em base seca (F). Para obter a massa de extrato (m ext), 5 ml do respectivo extrato foi seco em estufa a 65 °C até atingir massa constante.

$$X_0(\%) = \frac{m_{\text{ext}} \times V_{\text{ext}} (\text{mL})}{F \times 5 \text{ mL}} \times 100 \quad (1)$$

Fenólicos totais (FT)

O conteúdo de fenólicos totais (FT) dos extratos foi determinado em triplicata e calculado como ácido gálico equivalente (GAE)/g de casca seca. A metodologia utilizada foi a de Folin-Ciocalteu descrita por Singleton et al. (1999), com modificações.

Primeiramente, preparou-se a curva padrão de ácido gálico para sete pontos de diluição, com concentrações de 0,02 mg/mL a 0,20 mg/mL. Em seguida, a amostra do extrato foi diluída em água destilada para que a absorbância ficasse entre 0,1 e 0,9. Em uma microplaca transparente de 96 poços, 20 µL do branco (água destilada), da solução padrão de ácido gálico para os sete pontos diluídos e das amostras diluídas foram pipetados. 140 µL de água destilada foram adicionados, depois, 20 µL de Folin-Ciocalteu; e, por último, após três minutos de reação do Folin-Ciocalteu, 20 µL de solução saturada de carbonato de sódio. Preparada a microplaca, aguardou-se 120 min, com esta protegida da luz. Decorrido o tempo de espera da reação, a absorbância foi lida no comprimento de onda de 725 nm no leitor de

microplacas FLUOstar Optima (BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Alemanha).

Análise estatística

Os dados obtidos foram estatisticamente tratados com o software MINITAB® (Release 16.1.0, Minitab Inc.) por análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Rendimento global (X_0)

Os rendimentos globais da PLE da casca de pequi estão dispostos na Tabela 1. Observou-se uma variação de 17,12 a 45,30% em X_0 . Não houve diferença significativa para o maior rendimento nas seguintes condições: 110 °C a 50, 75 e 100% EtOH (v/v), 85 °C a 100% EtOH (v/v) e 60 °C a 75 e 100% EtOH (v/v). Da mesma forma, para 50% EtOH (v/v) a 60 °C e a 85 °C, que foram as extrações com menor X_0 .

Tabela 1. Rendimentos globais da PLE da casca de pequi.

Concentração de EtOH (%)	Temperatura (°C)	X_0 (% m/m) *
50	60	19,65 ± 1,01 ^c
75		43,39 ± 1,32 ^a
100		37,37 ± 0,16 ^a
50	85	17,12 ± 2,14 ^c
75		29,39 ± 2,95 ^b
100		41,76 ± 3,33 ^a
50	110	38,26 ± 0,12 ^a
75		45,30 ± 0,05 ^a
100		37,72 ± 3,05 ^a

* Letras iguais na mesma coluna determinam que não há diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) de significância pelo teste de Tukey.

Os estudos realizados por Barrales et al. (2018) e Viganó et al. (2016), nos quais foi feita a PLE da casca de laranja e maracujá, respectivamente, mostraram que o aumento da temperatura de extração tem efeito positivo no rendimento global, independentemente da concentração de etanol utilizada. As temperaturas máximas foram de 60 °C para Viganó et al. (2016) e 65 °C para Barrales et al. (2018). Outros trabalhos, como o de Oliveira et al. (2022), no qual foi feita a PLE do bagaço de limão Tahiti com as mesmas temperaturas utilizadas neste trabalho e misturas de etanol em água (75% m/m) como solvente, apresentaram o mesmo efeito benéfico. Isto ocorre porque o uso de temperaturas elevadas provoca a diminuição da viscosidade e da tensão superficial do solvente, o que aumenta a sua capacidade de penetração no substrato sólido (BARRALES et al, 2018; VIGANÓ et al., 2016). Adicionalmente, o aumento da temperatura também favorece a dessorção dos solutos da matriz, uma vez que promove o rompimento das interações intermoleculares que os mantêm ligados (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020).

No entanto, neste trabalho esta relação não ficou tão evidente, uma vez que o maior rendimento global foi obtido em todas as temperaturas avaliadas.

Quanto ao solvente, os trabalhos de Barrales et al. (2018) e Viganó et al. (2016), indicaram que a adição de água resulta em maiores X_0 . O uso de misturas de solventes aumenta os rendimentos globais, uma vez que aumenta a solubilidade e a interação entre os componentes alvo e o solvente de extração (VIGANÓ et al., 2016). O uso da mistura de etanol e água permite dissolver compostos de polaridade moderada a alta a depender da concentração (BARRALES et al., 2018). Nesse caso, a presença de água costuma ser especialmente benéfica, pois contribui para a quebra da matriz e das ligações matriz-soluto, como as ligações de hidrogênio (MUSTAFA; TURNER, 2011).

Neste trabalho, nas condições de 60 e 85 °C o uso de maiores concentrações de etanol apresentou os maiores rendimentos globais, enquanto a 110 °C não houve diferença significativa entre os solventes.

Fenólicos totais (FT)

A análise de fenólicos totais apresentou resultados variando entre 37,51 e 138,10 mg GAE/g de casca seca (Tabela 2). A melhor condição foi observada a 110 °C a 75% EtOH (v/v). Já a condição que apresentou o menor conteúdo de fenólicos totais foi a 60 °C a 50 e a 100% EtOH (v/v) e a 85 °C a 50% EtOH (v/v).

Tabela 2. Concentrações de fenólicos totais dos extratos da casca do pequi obtidos por PLE

Concentração de EtOH (%)	Temperatura (°C)	Fenólicos Totais (mg AGE/g casca seca) * *
50	60	38,86 ± 3,02 ^d
75		96,44 ± 5,35 ^b
100		63,02 ± 5,89 ^{cd}
50	85	37,51 ± 6,01 ^d
75		85,34 ± 9,40 ^{bc}
100		78,21 ± 6,17 ^{bc}
50	110	94,91 ± 3,98 ^b
75		138,10 ± 15,90 ^a
100		96,34 ± 2,83 ^b

** Letras iguais na mesma coluna determinam que não há diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) de significância pelo teste de Tukey.

O aumento da temperatura facilita a penetração do solvente nos poros da matriz devido à diminuição da tensão superficial, aumentando a difusividade dos compostos fenólicos, o que facilita o seu transporte e extração (BARRALES et al., 2018). As análises da PLE da casca de laranja e maracujá feitas por Barrales et al. (2018) e Viganó et al. (2016) também seguiram essa tendência, assim como o trabalho de Oliveira et al. (2022).

Quanto ao solvente, a polaridade do soluto deve ser semelhante à do solvente (MUSTAFA; TURNER, 2011). Dessa forma, o etanol é capaz de dissolver compostos moderadamente polares e a água, substâncias altamente polares (BARRALES et al., 2018). Entretanto, apesar de vantajosa para obter rendimentos globais mais elevados, essa abordagem pode levar à obtenção de extratos contendo uma quantidade significativa de moléculas indesejáveis junto aos compostos-alvo (PEREIRA et al., 2016).

Para Barrales et al. (2018), a concentração de 75% de etanol apresentou melhores resultados e a diminuição do teor de etanol provocou queda na extração de compostos fenólicos. Já para Viganó et al. (2016), a melhor condição foi a 70% de etanol; nesse trabalho, porém, o aumento da concentração de etanol levou a redução do teor de fenólicos totais, causado pela redução da polaridade, diminuindo a interação entre os compostos fenólicos e o solvente (VIGANÓ et al., 2016). Isso indica que a mistura de etanol e água, em torno de 70 - 75% de etanol, ajusta a polaridade do solvente de maneira a favorecer significativamente a extração de compostos fenólicos (VIGANÓ et al., 2016).

Neste trabalho, analisando a PLE em cada temperatura, têm-se que a diminuição do teor de etanol de 75% (v/v) para 50% (v/v) provocou queda na extração de compostos fenólicos totais. Já para 60 °C e 110 °C, o aumento de 75% (v/v) para 100% (v/v) também causou queda no teor de compostos fenólicos totais.

CONCLUSÕES:

A PLE aparenta ser uma técnica de grande potencial para extração de compostos fenólicos da casca do pequi. Em relação ao rendimento global, a temperatura não teve influência significativa, e quanto ao solvente, nas condições de 60 e 85 °C o uso de maiores concentrações de etanol apresentou os melhores

resultados, enquanto a 110 °C não houve diferença significativa entre os solventes. Já em relação ao conteúdo de fenólicos totais, 110 °C a 75% EtOH (v/v) foi a condição mais favorável de PLE.

Portanto, visando alcançar o melhor rendimento e teor fenólico da extração, 110 °C a 75% EtOH (v/v) seria a condição ideal a ser trabalhada. Caso fosse preciso trabalhar a temperaturas reduzidas, 60 °C a 75% EtOH (v/v) foi a condição de menor temperatura que atingiu melhor rendimento global e segundo melhor teor de fenólicos totais, podendo também ser uma opção viável.

BIBLIOGRAFIA:

AGUIAR, L. M. DE S.; CAMARGO, A. J. A. DE. Cerrado: ecologia e caracterização. [s.l.] Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2004.

ALVAREZ-RIVERA, G. et al. Chapter 13 - Pressurized Liquid Extraction. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012816911700013X>>.

BARRALES, F. M. et al. Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids — An application to orange peel. *Food and Bioproducts Processing*, v. 112, p. 9–21, nov. 2018.

CANGUSSU, L. B.; LEÃO, D. P.; OLIVEIRA, L. S.; FRANCA, A. S. Profile of bioactive compounds in pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel flours. *Food Chemistry*, v. 350, p. 129221, 2021.

LEÃO, D. P.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S.; BASTOS, R.; COIMBRA, M. A. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. *Food Chemistry*, v. 225, p. 146-153, 2017.

PAULA, D. et al. Chapter 21 - Biological activities of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128241356000155#bib24>>. Acesso em: 8 jul. 2023.

MACIEL, T. C. M. et al. Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) extrativism: situation and perspectives for its sustainability in Cariri Cearense, Brazil. *Acta agronomica*, v. 67, n. 2, p. 238–245, 2018.

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, out. 2011.

OLIVEIRA, A. M. B. et al. Extraction of potential bioactive compounds from industrial Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tan.) by-product using pressurized liquids and ultrasound-assisted extraction. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, v. 157, n. 111381, p. 111381, 2022.

PEREIRA, R. G. et al. Extraction of lignans from *Phyllanthus amarus* Schum. & Thonn using pressurized liquids and low pressure methods. *Separation and purification technology*, v. 158, p. 204–211, 2016.

VERA, R.; NAVES, R. V.; DO NASCIMENTO, J. L.; CHAVES, L. J.; LEANDRO, W. M.; DE SOUZA, E. Caracterização física de frutos do pequi (Caryocar brasiliense Camb.) no Estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 35, n. 2, p. 71–79, 2005.

VIGANÓ, J. et al. Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, v. 85, p. 51–58, 2016.

VIGANÓ, J. et al. Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. *Food and Bioproducts Processing*, v. 100, p. 382–390, 1 out. 2016.