



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE QUÍMICA

PEDRO AMÉRICO CORREA CASTRO

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA TORTA DO MESOCARPO DO
DENDÊ**

BELÉM
2019

PEDRO AMÉRICO CORREA CASTRO

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DA TORTA DO MESOCARPO DO
DENDÊ**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado para obtenção de grau de
Bacharel em Química Industrial, Faculdade
de Química Industrial, Instituto de Ciências
Exatas e Naturais, Universidade Federal do
Pará.

Orientadora: Profa. Dra. Nadia Cristina
Fernandes Corrêa

BELÉM
2019

Dedico este trabalho aos meus pais, por todo o incentivo e ajuda para que esta conquista pudesse ser concretizada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus por ter me concedido determinação e força para superar os obstáculos, por estar comigo, não somente nesses seis anos acadêmicos, mas por toda minha vida.

Gostaria de agradecer à Universidade por ter me proporcionado uma oportunidade de estudo, onde consegui desempenhar minhas atividades com qualidade no ensino.

Quero agradecer também aos meus professores, e principalmente a minha orientadora, Profa. Dra. Nadia Cristina Fernandes Corrêa, pela sua dedicação e por ter me dado todo o suporte na estrutura deste projeto, me repassando todo conhecimento necessário para que se obtivesse o sucesso almejado, e esse mérito alcançado.

Desejo agradecer aos meus colegas de classe, meus amigos e a meus pais (Maria Anastácia e José João) que me deram toda a força e me ajudaram a superar todas as dificuldades ao longo desse caminho.

Por fim, quero agradecer a todos que me ajudaram de forma direta ou indiretamente, que colaboram na construção deste sonho. O meu muito obrigado!!!

“Um pequeno passo para o homem, mas um grande salto para a humanidade.”

(Neil Armstrong)

“Eu escolho uma pessoa preguiçosa para fazer um trabalho duro. Porque uma pessoa preguiçosa irá encontrar uma forma fácil de fazê-lo.”

(Bill Gates)

RESUMO

Nativo do continente africano, o dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) apresenta componentes benéficos para a saúde por auxiliar o organismo na inibição de radicais livres que em excesso causam diversas patologias em humanos. Os compostos fenólicos são um desses componentes que apresentam características antioxidantes. Desta forma, a recuperação desses compostos bioativos é bastante relevante pelas suas propriedades e pela intensificação da exploração de resíduos agroindustriais que amenizam os danos socioambientais causados pela cultura do dendê. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial da torta do mesocarpo do dendê como fonte de compostos fenólicos e verificar condições ótimas de extração analisando parâmetros como a temperatura, a granulometria, os métodos de extração e a razão sólido:solvente. Foi feita a secagem e a cominuição da TMD para obtenção das granulometrias de 48 mesh e de 100 mesh. Após o pré-tratamento da amostra, foi realizado uma extração do óleo da TMD em Soxhlet, para posteriormente serem analisadas quanto ao teor de fenólicos o óleo obtido da extração e a TMD sem o óleo. A extração dos compostos fenólicos seguiu-se um planejamento, onde as variáveis eram: granulometria (48 mesh e 100 mesh), razão sólido:solvente (1:10 e 1:20), temperatura na secagem entre 60°C e 70°C, a utilização do ultrassom, por ser um método alternativo de extração e mais eficiente em relação ao método convencional. A utilização de um extrator hidrometanólico favoreceu a extração dos compostos, pois aumenta a polaridade da solução extrativa. Os teores de compostos fenólicos foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu utilizando o espectrofotômetro. Para as condições mencionadas, os teores fenólicos totais ficaram na faixa de $0,6060 \pm 0,06$ EAG/grama – $4,2644 \pm 0,21$ mgEAG/grama de amostra, demonstrando maior eficiência na granulometria de 100 mesh, em uma razão sólido:solvente de 1:20, em uma temperatura de secagem de 60°C, e a utilização do ultrassom como método de extração. A análise estatística dos valores obtidos mostrou que a razão sólido:solvente e o método de extração alternativo usando o ultrassom apresentaram influência significativa nos resultados.

Palavras-chave: Dendezeiro. TMD. Compostos Fenólicos.

ABSTRACT

Native to the African continent, the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Has beneficial health components by assisting the body in inhibiting free radicals that in excess cause various pathologies in humans. Phenolic compounds are one of those components that have antioxidant properties. In this way, the recovery of these bioactive compounds is very relevant for their properties and for the intensification of the exploitation of agroindustrial residues that soften the socioenvironmental damages caused by palm oil crops. The objective of this work was to evaluate the potential of palm mesocarp cake as a source of phenolic compounds and to verify optimal extraction conditions by analyzing parameters such as temperature, grain size, extraction methods and solid solvent ratio. TMD was dried and comminuted to obtain 48 mesh and 100 mesh granulometry. After the pre-treatment of the sample, an oil extraction of the TMD was carried out in Soxhlet, after which the oil obtained from the extraction and the TMD without the oil were analyzed for the phenolic content. The extraction of the phenolic compounds followed a planning, where the variables were: granulometry (48 mesh and 100 mesh), solid ratio: solvent (1:10 and 1:20), drying temperature between 60°C and 70°C, the use of ultrasound, because it is an alternative method of extraction and more efficient than the conventional method. The use of a hydrometanic extractor favored the extraction of the compounds, since it increases the polarity of the extractive solution. The contents of phenolic compounds were quantified by the Folin-Ciocalteu method using the spectrophotometer. For the mentioned conditions, the total phenolic contents were in the range of 0.6060 ± 0.06 EAG / gram - 4.2644 ± 0.21 mgEAG / gram of sample, demonstrating greater efficiency in the 100 mesh granulometry, in a solid ratio : solvent of 1:20, at a drying temperature of 60 ° C, and the use of ultrasound as the extraction method. Statistical analysis of the values showed that the solid solvent ratio and the alternative extraction method using ultrasound showed a significant influence on the results.

Keywords: Oil palm. TMD. Phenolic Compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Dura (A), Tenera (B) e Psífera (C).....	15
Figura 02 - Constituição do fruto de dendê.....	15
Figura 03 - Fluxograma do processamento industrial do dendê.....	16
Figura 04 - Estrutura base de um composto fenólico	17
Figura 05 - Estrutura do composto Quercetina.....	19
Figura 06 - Esquema de um sistema para extração utilizando Soxhlet.....	20
Figura 07 - Amostra armazenada em saco com fechamento à vácuo.....	24
Figura 08 - Extrator Soxhlet	25
Figura 09 - Fluxograma geral do processo.....	29
Figura 10 - Curva de calibração da absorbância versus a concentração de ácido gálico utilizada para determinação do teor de compostos fenólicos totais ($R^2=0,9978$), ($y=0,0148x+0,0394$).....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Curva padrão do ácido gálico.....	28
Tabela 02 – Resultados da separação granulométrica da TMD.....	30
Tabela 03 - Dados referente à extração soxhlet.....	31
Tabela 04 - Teor de fenólicos em granulometria de 48 mesh e 100 mesh, temperatura de secagem de 60°C e extração com mesa agitadora.....	33
Tabela 05 - Teor de fenólicos em granulometria de 48 mesh e 100 mesh, temperatura de secagem de 60°C e extração com ultrassom a 50°C.....	33
Tabela 06 - Resultado do teor de fenólicos em granulometria de 48 mesh, após processo de desengorduramento em soxhlet, utilizando uma razão sólido:solvente.....	34
Tabela 07 – Resultado do teor de fenólicos de amostras em secagem de 70°C, em um razão sólido:solvente de 1:20.....	35
Tabela 08 - Teste de Tukey para os parâmetros de extração razão sólido:solvente e granulometria para o método de extração convencional.....	36
Tabela 09 - Teste de Tukey para os parâmetros de extração razão sólido:solvente e granulometria para o método de extração usando ultrassom.....	37
Tabela 10 - Teste de Tukey para comparação dos métodos de extração em razão sólido:solvente de	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVO GERAL.....	13
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3.1	O DENDÊ.....	14
3.2	Compostos fenólicos e atividade antioxidante.....	17
3.3	Métodos de extração dos compostos fenólicos.....	19
3.3.1	Extração assistida por ultrassom (UAE).....	21
3.3.2	Extração assistida por micro-ondas (MAE).....	21
3.3.3	Extração com fluidos supercríticos (SFE).....	21
3.4	Métodos de quantificação dos compostos fenólicos.....	22
3.4.1	Método de Folin-Ciocalteu	22
3.4.2	Método de inibição de radicais livres (DPPH).....	22
3.4.3	Método cromatográfico	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	Matéria-Prima.....	24
4.2	Etapas para o procedimento experimental.....	24
4.2.1	Extração do óleo da TMD.....	25
4.2.2	Extração dos compostos fenólicos totais.....	26
4.2.2.2	Extração utilizando ultrassom	26
4.2.3	Análise de compostos fenólicos totais	27
4.2.3.1	Preparo das soluções	27

4.2.3.1.1	Solução de Folin-Ciocalteu 10%.....	27
4.2.3.1.2	Solução de Carbonato de Sódio (Na ₂ CO ₃) 7,5%.....	27
4.2.3.1.3	Solução de extração diluída - metanol a 7%.....	27
4.2.3.1.4	Solução mãe de ácido gálico.....	28
4.2.3.2	Elaboração da curva padrão de ácido gálico	28
4.2.3.3	Procedimento experimental.....	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1	Avaliação da secagem e cominuição da TMD.....	30
5.2	Avaliação da extração de óleo utilizando Soxhlet.....	31
5.3	Avaliação da análise dos compostos fenólicos.....	32
5.3.1	Análise estatística dos parâmetros utilizados na extração dos compostos fenólicos	36
6	CONCLUSÃO.....	38
	REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

As paisagens do nordeste paraense vêm sofrendo alterações históricas com a implantação em massa da cultura do dendê, trazendo consigo uma reorganização no cenário paraense, com uma nova configuração territorial e dinâmica social. O Pará é responsável por 88% da produção de dendê no Brasil, principalmente pelo clima e solo da região que proporcionam ao dendezeiro uma alta produtividade e eficiência energética, fazendo com que o mesmo, seja uma matéria-prima de grande potencial para produção de biodiesel (NAHUM; SANTOS, 2018).

A cultura do dendezeiro tem a sua ascensão no nordeste paraense com o advento de novas políticas que objetivaram implementar a produção de biodiesel de forma sustentável, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, via geração de emprego e renda. Um exemplo disso, é a integração de pequenos produtores em empresas nacionais e multinacionais para a elevação da produtividade do dendezeiro (GLASS, 2013).

No Pará, há uma área de aproximadamente 205 mil hectares de plantio dessa palmeira. Demonstrando um grande avanço na produção dessa oleaginosa, e fazendo com que aumente consideravelmente a quantidade de biomassa após o processo de extração do óleo de dendê. Estima-se que a cada hectare de dendê plantado, há uma produção média de 20 toneladas de biomassa (coprodutos) por ano. Pensando na preservação do meio ambiente e na eficiência do processo produtivo do dendezeiro, a biomassa originada do processo de extração, é aplicada como fonte de energia, e por seus frutos serem ricos em compostos bioativos, alguns coprodutos, como o TMD, vem desempenhando papel importante como antioxidante (GLASS, 2013).

Os alimentos ricos em compostos bioativos que, além de seu alto valor nutricional, beneficiam a saúde e o bem-estar do consumidor, têm sido utilizados em extrações para obtenção de antioxidantes e polifenóis, trazendo benefícios para a indústria de alimentos e farmacêutica, em substituição ao uso de aditivos sintéticos que provocam problemas para a saúde do consumidor (Schieber et al., 2001).

Usualmente, a extração com solventes polares é a técnica mais utilizada para obtenção de extratos com compostos fenólicos e atividade antioxidante. Acetona, metanol, etanol e água são os solventes mais empregados. Processos que empregam o dióxido de carbono supercrítico podem ser uma alternativa para se obter extratos com compostos bioativos, tendo em vista que o dióxido de carbono

produz extratos limpos, é inerte, não tóxico, é livre de microrganismos patogênicos e a ausência de oxigênio previne a oxidação. No entanto, o dióxido de carbono é um solvente apolar e a extração fica restrita a compostos apolares ou de baixa polaridade (Shi *et al.*, 2011).

As extrações de compostos antioxidantes e dos compostos fenólicos vêm sendo aprimoradas com novas técnicas de extração, possibilitando uma extração com maior eficiência, tendo em vista as particularidades dos compostos fenólicos serem sensíveis a luz, sensíveis a grandes temperaturas, e compostos bioativos que possuem polaridade heterogênea.

2 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial da torta do mesocarpo de dendê como fonte de compostos fenólicos.

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar o teor de componentes fenólicos na TMD desengordurada e no seu óleo;
- Avaliar o efeito do processo de extração no rendimento dos compostos fenólicos;
- Avaliar a influência da granulometria do processo de extração dos compostos fenólicos.
- Avaliar estatisticamente os resultados obtidos, evidenciando as variáveis mais relevantes para o experimento, bem como as suas interações.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O Dendê

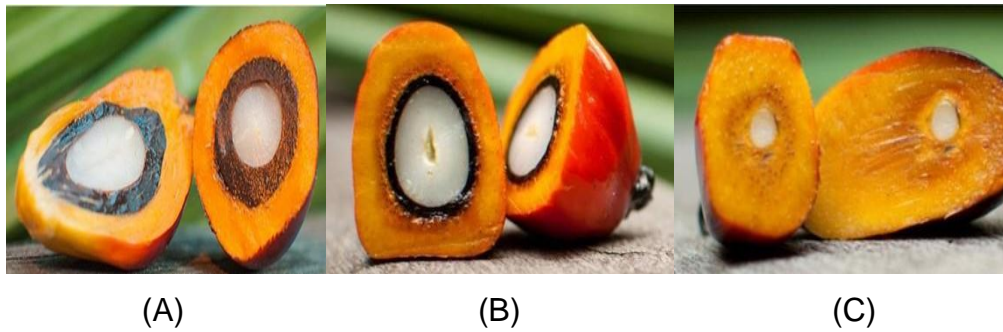
O dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.), é originário do continente africano e teve seu primeiro contato em terras Brasileiras, na Bahia, no final do século XVI, através dos escravos africanos, mas o clima da região não favoreceu a produção em massa do Dendê. Sendo posteriormente levado para a região amazônica, onde, o ambiente tropical, com o clima quente, úmido e precipitação elevada e bem distribuída ao longo do ano, favoreceu a produção de grandes áreas cultivadas do dendê (BOARI, 2008).

O fortalecimento da cultura do dendezeiro no Brasil, em um contexto histórico, teve seu início no período do regime militar, com a implantação de políticas de incentivo a utilização de energias renováveis, devido à grande crise do petróleo nos anos 70. Porém, a cultura do dendezeiro tornou-se um grande ramo do agronegócio com o grande avanço na produção do óleo de dendê em várias regiões, aliado com o incentivo à produção de biodiesel (PNPB), trazendo novas perspectivas de um novo ciclo econômico na Amazônia (CÉSAR e BATALHA, 2010).

A cultura do dendezeiro, apresenta melhor desenvolvimento em regiões tropicais, pela dependência de fatores climáticos como: a temperatura, a insolação, a precipitação de chuva, a umidade relativa do ar, e o solo. As condições ótimas para esses fatores satisfazerem em pleno desenvolvimento a cultura do dendê, são: precipitação em média de 2000 mm, insolação de 5 horas diárias, umidade relativa do ar com média de 80%, temperatura com intervalo ideal de 25°C e 28°C, e solos profundos, permeáveis, e com PH entre 4,5 e 6,0 (HOMMA et al., 2000; FEROLDI et al., 2014).

No que se refere a caracterização botânica e morfológica do dendê, podemos destacar a sua cultura perene, podendo alcançar até 15 metros de altura, pertencente à família *Arecaceae*, apresentam sistema radicular fasciculado (monocotiledôneas), e o cacho é formado por diversos frutos que são os fornecedores de óleo na planta. Os frutos do dendê possuem uma classificação importante em relação a espessura do endocarpo, podemos analisar essa classificação na Figura 01. O fruto classificado como Dura, apresenta endocarpo espesso e com pouca polpa, o Psífera, com fruto marcante pela ausência de casca protetora da amêndoa, e o Tenera, apresenta um endocarpo fino e uma maior proporção de polpa no fruto em relação ao dura (BORGES et al., 2016).

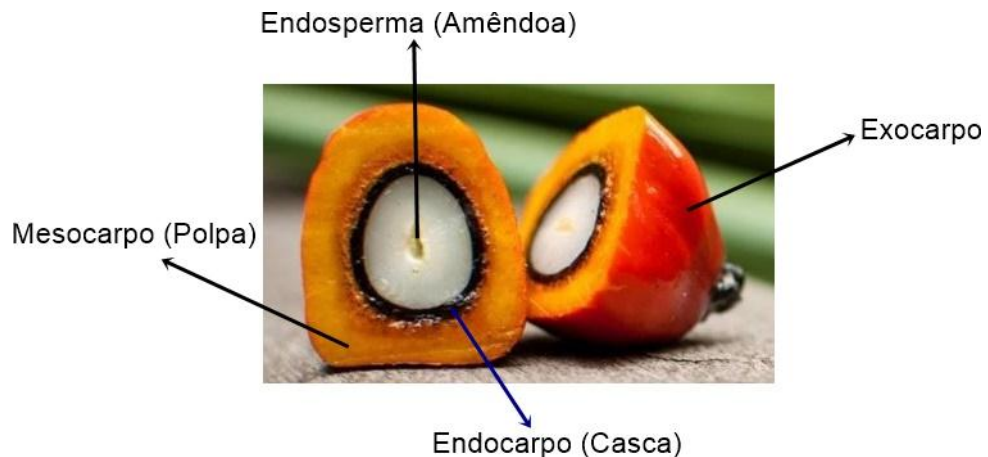
Figura 01 - Dura (A), Tenera (B) e Psífera (C)



Fonte: Adaptado de MPOB/NATURE.

A produção dos cachos tem início a partir dos 3,5 anos após o plantio, chegando ao ápice entre 7 e 15 anos. Cada cacho possui em média 1500 frutos, o que representa 65% do peso do cacho, sendo o fruto com uma variação de 2 a 5 cm em comprimento e de 3 a 30 g em relação ao seu peso. Os frutos são constituídos (Figura 02) de uma pele exterior (exocarpo), da polpa (mesocarpo), de uma casca protetora da amêndoa (endocarpo), e a amêndoa (endosperma) (SUFRAMA, 2003).

Figura 02 - Constituição do fruto de dendê

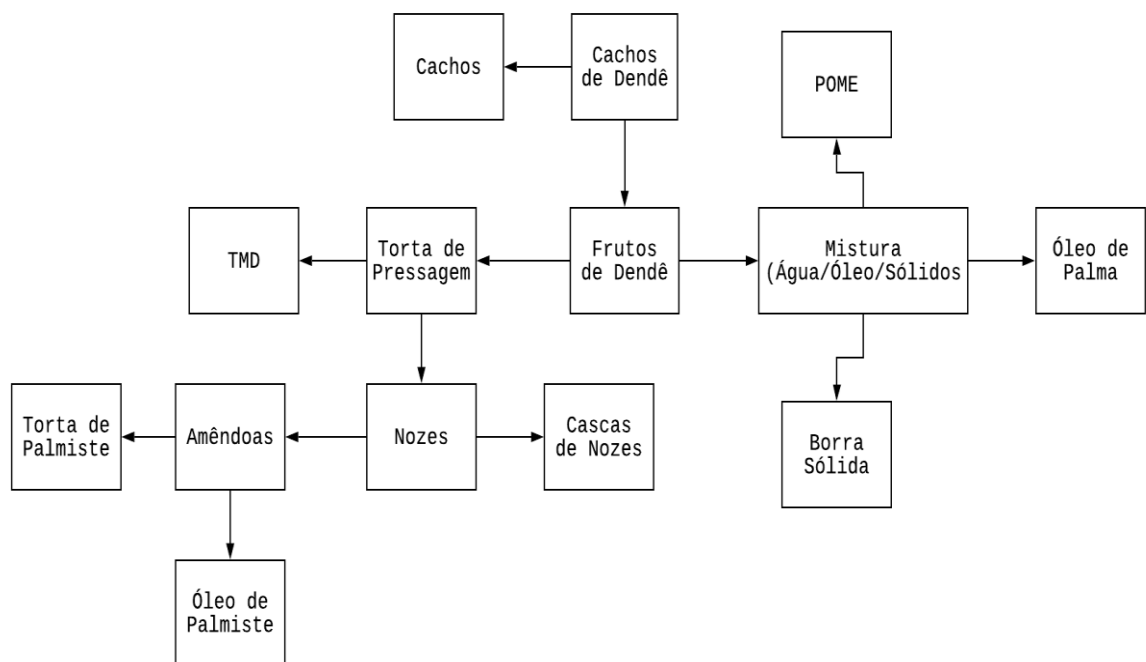


Fonte: Adaptado de MPOB/NATURE.

Os principais produtos do dendezeiro são os óleos de palma e o de palmiste, extraídos industrialmente da polpa do fruto e da amêndoa, respectivamente. Ao processarmos os frutos do dendezeiro, conseguimos um rendimento de 22% em óleo de palma (polpa), e em média de 1,5% do óleo palmiste, esses rendimentos possuem variação de acordo com o sistema de produção adotado, principalmente em relação as condições climáticas, que determinarão na eficiência da polinização. O óleo de palma refinado está presente em 50% dos produtos comercializados nos supermercados, sendo que 72% do óleo de palma produzido no mundo é aplicado em alimentação. No Brasil, 97% da demanda de óleo de palma é para fins alimentícios (MAPA, 2018).

No processo de extração do óleo de palma e do palmiste, são gerados coprodutos em determinadas etapas do processo (Figura 03), esses coprodutos resultam nas seguintes proporções: a torta do palmiste (3,5%), engaços (22%), fibras (12%), cascas (5%), e efluentes líquidos (50%). Esses produtos secundários podem ser aplicados como fontes de energia, produtos para agricultura e utilização como ração de animais, essas aplicações devem ser encaradas sob os aspectos sanitário, ambiental, econômico e social (FiB, 2014).

Figura 03 - Fluxograma do processamento industrial do dendê



Fonte: Adaptado de MORAIS et al., 2013.

A Torta do Mesocarpo do Dendê (TMD), também conhecida como fibra de dendê prensada, é um co-produto resultante da prensagem de frutos do dendê, apresenta uma estrutura com alto poder calorífico, com alto teor de lignina ($30,53 \pm 6,96$), sendo comumente usado como combustível sólido para aquecer as caldeiras que geram vapor. O TMD possui uma grande quantidade de nutrientes, e compostos bioativos, tais como compostos fenólicos, carotenos, esteróis e tócois, demonstrando a importância da reutilização desse co-produto em diversas aplicações, tendo em vista, a grande demanda da fibra prensada do dendê para cada tonelada de óleo de palma produzido, estima-se que para cada tonelada de biomassa produzida, 12% será convertido em TMD, ou seja, aproximadamente 0,12 toneladas de TMD (MORAIS et al., 2013).

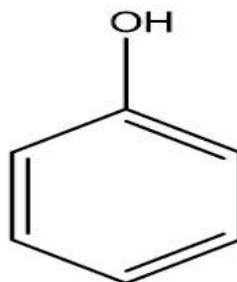
O dendezeiro destaca-se entre as oleaginosas por apresentar maior produção de óleo por unidade de área, sendo os seus principais produtores localizados no continente asiático principalmente na Malásia, na Indonésia e na Tailândia, que representam um total de 88% da produção mundial óleo de palma, o Brasil ocupa a 9ª colocação, representando uma produção de 0,64%. O estado do Pará é o que possui maior protagonismo na cultura do dendê, com 88% da área plantada, seguido pelos estados da Bahia (11%) e de Roraima (1%) (MAPA, 2018).

3.2 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

Os alimentos como frutas e vegetais são ricos em fontes de vitaminas, fibras e minerais e devem ser utilizados em dietas pelas suas propriedades farmacológicas, anti-inflamatórias, antialérgicas e antimicrobianas. O efeito protetor exercido por esses alimentos tem sido atribuído principalmente pela presença de fitoquímicos com ação antioxidante, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos, onde esses compostos atuam como neutralizadores de radicais livres, doando átomos de hidrogênio, elétrons, ou complexando cátions metálicos (MELO et al., 2008).

Quimicamente, os compostos fenólicos são definidos como substâncias orgânicas que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. O grupo hidroxila (OH^-) deve estar diretamente ligada ao anel aromático para ser caracterizado um fenol, sendo este, o composto fenólico mais simples (Figura 04). Esses compostos formam um dos grupos mais numerosos do reino vegetal, com mais de 8000 mil diferentes estruturas conhecidas (ROCHA et al., 2011).

Figura 04 - Estrutura base de um composto fenólico



Fonte: ATKINS; JONES, 2012.

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos possui uma relação direta com a ressonância do anel aromático, e sabe-se que os compostos fenólicos

poliméricos são antioxidantes mais eficientes do que os fenóis monoméricos, sendo assim, a eficiência dos compostos fenólicos como antioxidantes, depende do número de determinantes estruturais, incluindo o número e posições dos grupos hidroxila e metóxi no anel benzênico e a dupla ligação da função oxo ($-C=O$) (SILVA et al., 2010).

Uma ampla definição de antioxidante é qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz. Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poli-insaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. Os antioxidantes obtidos da dieta, tais como as vitaminas C, E, A, os flavonoides e carotenoides são extremamente importantes na interceptação dos radicais livres. (BIANCHI, 1999).

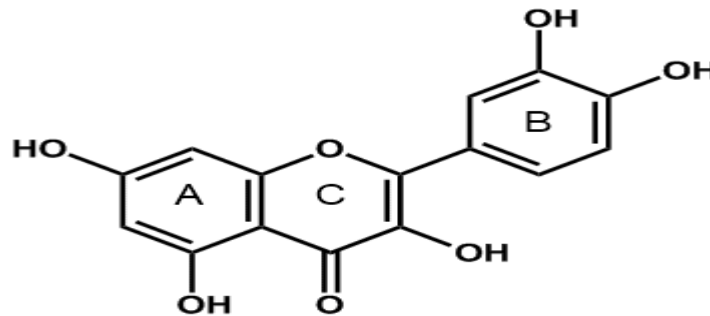
A importância da utilização de compostos antioxidantes é explicada pela deterioração oxidativa de gorduras e óleos (formação de radicais livres) que favorecem o surgimento de odores e sabores rançosos. Geralmente, são utilizados antioxidantes sintéticos, como o Hidroxianisol Butilado (BHA), porém a toxicidade desse produto, levou à necessidade de estudos para a substituição de antioxidantes sintéticos pelos naturais (LEONARDIS et al., 2003).

Os fenólicos podem ser divididos em flavonoides (polifenóis), taninos, calconas, ligninas, tocoferóis e os ácidos fenólicos (fenóis simples). Dentre esses, os flavonoides são os grupos mais importantes, possuem mais de 5000 mil compostos, podendo ser dividida em algumas classes, as mais importantes são: flavonóis, flavanóis, flavonas, flavanonas e antocianinas. Dentro destas classes existem variações na estruturação de acordo com o grau de hidrogenação e hidroxilação dos três sistemas de anéis desses compostos (ACHKAR et al., 2013)

Em geral, essas classes agem como sequestradores de radicais livres, e possuem uma atividade antioxidante ótima, quando há presença dos grupos hidroxil nas posições 3', 4' no anel B, os quais conferem uma estabilidade ao radical formado, participando no deslocamento do elétron. Além disso, a presença da hidroxila na posição 3' e as duplas ligações entre as posições 2' e 3' no anel C, e finalmente, um grupo hidroxil na posição 5' do anel A, e um grupo carbonilo na posição 4' no anel C. Todos esses fatores ótimos, aumentam a eficiência na

atividade antioxidante de determinado composto. A Quercetina (Figura 05), é um flavonoide que reúne todas essas características ótimas, sendo um dos mais potentes antioxidantes naturais (BEHLING et al., 2004).

Figura 05 - Estrutura do composto Quercetina



Fonte: Adaptado de BEHLING et al., 2004.

A qualidade dos compostos naturais e sua atividade antioxidante, não dependem apenas da qualidade da planta, da origem geográfica, das condições climáticas e de seu armazenamento, mas também de outros fatores importantes que interferem na atividade antioxidante, como: a polaridade do solvente extrator, os processos de separação dos compostos, a pureza dos compostos ativos, assim como as metodologias de teste da atividade (SARKIS, 2014).

3.3 Métodos de extração dos compostos fenólicos

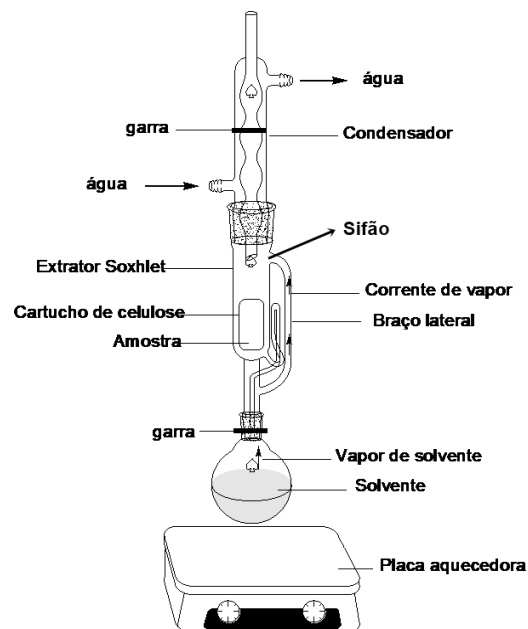
Diversos métodos de extração de compostos fenólicos têm sido propostos, sendo a utilização de solventes orgânicos e inorgânicos, o método convencional. De forma geral, os métodos convencionais de extração de compostos fenólicos se baseiam na difusão dos compostos de uma matriz sólida (amostra), utilizando uma matriz líquida (solvente). Os agentes de extração normalmente utilizados são misturas de águas com solventes orgânicos, sendo os principais, metanol, acetona e etanol. A eficiência da extração depende principalmente da escolha do solvente, pois a natureza química dos compostos encontrados em plantas é heterogênea, portanto, a solubilidade desses compostos depende diretamente do solvente empregado (SOUZA-SARTORI et al., 2013).

O tempo e a temperatura de extração são também parâmetros importantes, o aumento do tempo e da temperatura podem aumentar a eficiência do processo, porém os fenólicos possuem sensibilidade a altas temperaturas, podendo ocasionar degradação da estrutura. Em procedimentos mais convencionais, os compostos fenólicos são extraídos de uma simples agitação da amostra com um solvente

adequado, esse processo é bastante eficiente, mas alguns fenólicos estão ligados diretamente a proteínas, à parede celular, ou a fibra da amostra em processo de extração. Neste caso, sendo necessária uma hidrólise ácida ou alcalina para melhor extração dos compostos da matriz, por serem processos que favorecem a solubilização de proteínas (PEREZ-JIMENES et al., 2008).

No que se refere a métodos de extração convencionais, ainda podemos incluir a extração soxhlet (Figura 06), no qual consiste em uma extração em que o solvente é aquecido no balão até entrar em ebulição. O vapor formado sobe pelo tubo lateral até o condensador, onde sofre condensação, gotejando no extrator e cobrindo o cartucho. Quando o nível do solvente atingir o sifão, o solvente é evacuado pelo braço lateral, levando consigo as substâncias solúveis. O processo se repete enquanto o sistema ficar em aquecimento (algumas horas), com o objetivo de enriquecer o solvente no componente que se deseja separar. Após resfriamento, o solvente pode ser evaporado por destilação e reciclado. Vários solventes podem ser usados sucessivamente, aumentando a polaridade, para a extração de uma mesma amostra (BECKER et al., 1997)

Figura 06 - Esquema de um sistema para extração utilizando Soxhlet



Fonte: Adaptado BECKER et al., 1997.

Os processos convencionais possuem algumas desvantagens como: geração de resíduos tóxicos, utilização de solventes que podem ser prejudiciais ao meio ambiente, resistência natural da planta para a penetração do solvente, e promovem a degradação de alguns compostos de interesse, devido a fatores inerentes ao processo, tais como temperaturas elevadas e exposição ao ar e a luz. Buscando

melhorar a eficiência dos processos de extração, diversas técnicas vêm sendo utilizadas por serem mais simples, rápidas e prezam pela preservação do meio ambiente. Surgiram assim a extração assistida por ultrassons (UAE), extração assistida por micro-ondas (MAE) e a extração com fluidos supercríticos (SFE) (SILVA; GARCIA; FRANCISCATO, 2016).

3.3.1 Extração assistida por ultrassom (UAE)

O uso de ultrassom, é reconhecido por facilitar a extração de compostos orgânicos e inorgânicos de matrizes sólidas usando solventes líquidos, esse método de extração possui um método de extração bem mais intenso, tornando possível a obtenção de elevadas taxas de extração em um menor tempo. A eficiência do processo deve-se à produção de ondas sonoras capazes de provocar cavitação acústicas, facilitando a penetração do solvente nas paredes celulares da matriz vegetal, libertando assim os seus conteúdos intracelulares. A extração assistida por ultrassom apresenta inúmeras vantagens, como por exemplo, redução do tempo de extração, consumo reduzido de solvente, além da extração em temperaturas inferiores, por evitar danos térmicos ao extrato e minimizar a perda de compostos ativos (PICÓ, 2013).

3.3.2 Extração assistida por micro-ondas (MAE)

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas com frequências entre 0,3 e os 300 GHz. Diferentemente do aquecimento convencional, o aquecimento por micro-ondas resulta da rotação dipolo das moléculas e da condução iônica (migração de íons). Durante a extração, o solvente é aquecido assim como a água presente no interior das células vegetais, este aquecimento gera uma pressão na parede celular, resultando na sua ruptura e conseqüentemente a liberação do conteúdo intracelular. Para a eficiência do processo, é de fundamental importância a escolha de um solvente com momento dipolar, levando em consideração seu ponto de ebulição, o fator de dissipação e sua constante dielétrica. Diante essas características, os solventes polares são amplamente mais utilizados no processo de extração utilizando micro-ondas (TSUKUI; REZENDE, 2014).

3.3.3 Extração com fluidos supercríticos (SFE)

A extração supercrítica ocorre tipicamente em leito fixo e em regime transiente (quando pelo menos uma variável do processo se encontra ainda em mudança) utilizando um fluido acima de sua pressão e temperatura crítica. O fluido supercrítico mais utilizado para extração de compostos fenólicos é o dióxido de

carbono (CO₂), por ser estável, apresentar baixa toxicidade, não ser inflamável, ser barato e não produzir tensão superficial. Além disso, o CO₂ alcança sua temperatura crítica aos 31°C, tornando-o ideal para extração de compostos termo sensíveis. A principal desvantagem da utilização do CO₂ é o seu caráter apolar, o que dificulta a extração de compostos polares. Contudo, essa limitação pode ser contornada com a adição de solventes polares como etanol e o metanol (Co solventes) (MAUL; WASICKY; BACCHI, 1996).

3.4 Métodos de quantificação dos compostos fenólicos

Diversos métodos têm sido desenvolvidos para analisar o potencial antioxidante de extratos naturais. Entretanto, não há um método universal para medir a atividade antioxidante de todos os extratos de forma precisa e quantitativa. Nesse contexto, o método de inibição de radicais livres (DPPH) é o mais utilizado. O método Folin-Ciocalteu é amplamente empregado na análise do teor de fenólicos totais dos extratos naturais, enquanto, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é utilizada na análise quantitativa de componentes específicos (VEBER et al., 2015).

3.4.1 Método de Folin-Ciocalteu

O método de Folin-Ciocalteu (F-C) é um método espectrofotométrico reconhecido pela sua simplicidade, rapidez e baixo custo, e é comumente usado para a determinação do teor de compostos fenólicos. O método baseia-se na oxidação dos polifenóis e na consequente redução do reagente F-C (mistura de fosfomolibdato e fosfotungstato), resultando a formação de um complexo de cor azul proporcional à concentração dos fenólicos (NEVES; ALENCAR; CARPES, 2009). A reação entre os polifenóis e o reagente F-C ocorre a um pH alcalino (≈ 10). Nestas condições alcalinas, ocorre a desprotonação dos grupos hidroxila da molécula dos polifenóis e a consequente liberação de elétrons que, por sua vez, levarão à redução do reagente F-C. A cor azul formada tem um máximo de absorção a 760 nm. A grande desvantagem deste método é o elevado número de interferentes (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999).

3.4.2 Método de inibição de radicais livres (DPPH)

Consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•), caracterizado como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron desemparelhado por toda a molécula. Esta deslocalização

confere a esta molécula uma coloração púrpura que absorve a 515 nm. Este ensaio se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta a amarelo pálido. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional. A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (C_{E50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua C_{E50} e maior a sua atividade antioxidante (ALVES et al., 2010).

3.4.3 Método cromatográfico

Diante da complexidade de qualificar e quantificar os compostos fenólicos, devido a existência de vários tipos que podem estar presentes simultaneamente, levou o desenvolvimento de técnicas separativas, como a utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), sendo o HPLC, a melhor técnica de eleição para a separação e quantificação de polifenóis, principalmente por analisar simultaneamente polifenóis de diferentes classes e grupos. Os compostos fenólicos absorvem radiação eletromagnética de diferentes comprimentos de onda. Por exemplo, os flavonoides têm duas bandas, a primeira absorve entre os 240 e os 285 nm, e a segunda banda um máximo entre 300 e os 550 nm. Desta forma, é possível selecionar comprimentos de onda específicos para a quantificação dos diversos polifenóis (KHODDAMI; WILKES; ROBERTS, 2013) As condições cromatográficas de um método típico para a determinação de polifenóis em frutos compreendem uma coluna de fase reversa, um detector de UV-Vis ou de díodos (DAD) e um sistema binário de solventes. O sistema HPLC-DAD é considerado o mais adequado para a quantificação de polifenóis em frutos, por ser capaz de detectar vários comprimentos de onda simultaneamente. Já o detector UV-Vis é capaz de variar o comprimento de onda de detecção, mas apenas uma leitura é feita a cada tempo (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998)

4 MATERIAL E MÉTODOS

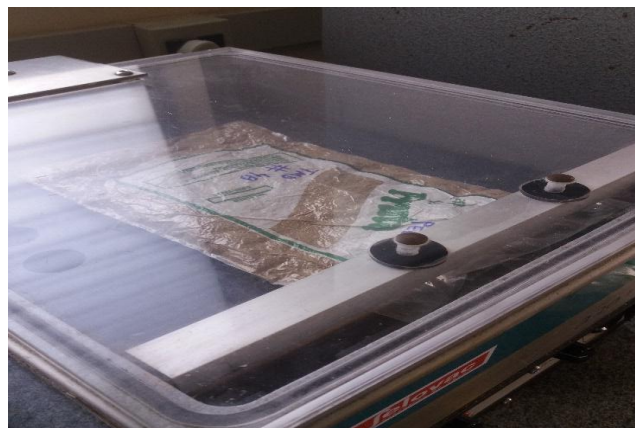
4.1 Matéria-Prima

A torta do mesocarpo do dendê (TMD) foi cedida pela empresa Biopalma S/A localizada no município de Moju-PA. A TMD representa os resíduos sólidos resultante do processo da prensagem do mesocarpo do dendê, para obtenção do óleo bruto de palma, e depois transportada em temperatura ambiente até o Laboratório de Operações de Separação (LAOS), da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Pará (UFPA).

4.2 Etapas para o procedimento experimental

Ao chegar no LAOS, o material foi lavado em água corrente e foi feita uma separação manual das sementes que permaneciam agregadas à TMD. Após esse processo de lavagem e separação do material a ser analisado, a TMD foi imediatamente para estufa e mantida em uma temperatura entre 60 C° e 70°C durante 12 horas para prevenir a degradação da matéria-prima por conta de ação de microrganismos, principalmente a ação de fungos. Após a secagem, o material foi levado a um moinho de facas para a cominuição e obtenção das granulometrias desejadas. Após o uso do moinho, utilizou-se um agitador de peneiras (RO-TAP) para a obtenção das granulometrias diferentes. Com a cominuição e a separação das amostras (TMD) de acordo com a granulometria, as amostras foram devidamente identificadas e armazenadas em sacos com fechamento à vácuo (Figura 07). Em seguida, as amostras foram mantidas em refrigeração até o momento das análises.

Figura 07 - Amostra armazenada em saco com fechamento à vácuo



4.2.1 Extração do óleo da TMD

Previamente ao processo de extração dos componentes fenólicos, a torta do mesocarpo do dendê passou por uma etapa de desengorduramento. Esse processo foi necessário devido o interesse em comparar a quantificação do teor fenólico, na torta sem o óleo (após o processo de desengorduramento) e no óleo resultante da extração. O processo foi realizado em triplicata com a pesagem de 10 gramas (± 1 grama) das amostras da TMD de granulometria 48 mesh. As amostras foram inseridas em um cartucho e acondicionadas no extrator Soxhlet (Figura 08). O solvente extrator utilizado foi o Hexano, por ser um solvente apolar, dissolvendo o óleo com facilidade, sendo adicionado 200 mL do solvente em um balão volumétrico de 500 mL, onde passa por um processo de aquecimento em uma manta térmica. O hexano passou por inúmeros ciclos de evaporação e condensação por um período de 6 horas. Após o fim do desengorduramento, o cartucho foi colocado em uma estufa a 40°C para evaporação do hexano e o óleo obtido foi armazenado em temperatura ambiente. Em 1 hora, o material do cartucho e óleo resultante foram extraídos e quantificados quanto ao teor de compostos fenólicos.

Figura 08 - Extrator Soxhlet



Fonte: Autor

4.2.2 Extração dos compostos fenólicos totais

Diversos fatores influenciam os processos de extração como o tipo de solvente, a temperatura, a relação soluto-solvente e a granulometria da amostra. Diante disso, a influência dessas variáveis foram analisadas com a finalidade de se obter a condição ótima desses compostos e, assim, possibilitar a melhor utilização desse subproduto.

As extrações foram realizadas utilizando o Álcool Metílico P.A (NEON) dissolvido em água (70%), a adição de água aumenta a eficiência do processo de extração, de acordo com Filho et al., (2017) ao analisar compostos fenólicos do fruto de buriti. O preparo da solução de extração Metanol/água (70/30, v/v) foi realizado medindo 70 ml de Álcool Metílico P.A (NEON), transferindo para um balão volumétrico de 100 ml e completando o volume do balão com 30 ml de água destilada.

Os métodos de extrações utilizados neste presente trabalho foram o método convencional utilizando uma mesa agitadora e o método de extração utilizando o ultrassom, de acordo com Silva; Garcia; Franciscato, (2016) a utilização do ultrassom favorece a extração dos compostos fenólicos.

4.2.2.1 Extração convencional

A extração foi realizada em uma mesa agitadora em uma rotação de 250 rpm, durante 30 minutos, com uma razão sólido-solvente de 1:10 e de 1:20. Aproximadamente 1 grama das amostras de granulometrias diferentes foram pesadas em uma balança analítica, e diluídas em 10 ml (1:10) e 20 ml (1:20) do solvente extrator. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos em uma rotação de 3000 rpm em uma temperatura ambiente. O sobrenadante foi filtrado em um balão volumétrico de 25 ml e seu volume foi ajustado utilizando a solução extratora Metanol/água 70%. Após a filtração e o ajuste do volume do balão, 1 ml do filtrado foi adicionado em um balão de 10 ml e completado com água destilada. As extrações foram realizadas em triplicatas.

4.2.2.2 Extração utilizando ultrassom

A extração foi realizada em um ultrassom com uma frequência ultrassônica de 40 KHz, durante 30 minutos, com uma razão sólido-solvente de 1:10 e de 1:20 em

uma temperatura de 50°C. Aproximadamente 1 grama das amostras de granulometrias diferentes foram pesadas em uma balança analítica, e diluídas em 10 ml (1:10) e 20 ml (1:20) do solvente extrator. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos em uma rotação de 3000 rpm em uma temperatura ambiente. O sobrenadante foi filtrado em um balão volumétrico de 25 ml e seu volume foi ajustado utilizando a solução extratora Metanol/água 70%. Após a filtração e o ajuste do volume do balão, 1 ml do filtrado foi adicionado em um balão de 10 ml e completado com água destilada. As extrações foram realizadas em triplicatas.

4.2.3 Análise de compostos fenólicos totais

Dentre os possíveis padrões para análise dos compostos fenólicos estão o ácido tânico, a catequina, o ácido cinâmico e o ácido gálico. Para este trabalho foi escolhido o ácido gálico monohidratado (NEON). Esse padrão é comumente empregado na análise utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (FC), sendo essa análise escolhida por ser amplamente utilizada na análise de fenólicos totais.

A metodologia de avaliação dos compostos fenólicos utilizada neste trabalho foi descrito por Singleton e Rossi (1965) e modificado por Georgé et al., (2005). A seguir será apresentado os procedimentos para análise dos compostos fenólicos totais.

4.2.3.1 Preparo das soluções

4.2.3.1.1 Solução de Folin-Ciocalteu 10%

Com o auxílio de uma proveta, medir 10 ml do reagente de Folin-Ciocalteu e transferir para um balão volumétrico de 100 ml e avolumar com água destilada. Manter o balão revestido com papel alumínio, ou manter a solução em frasco âmbar, devido a sensibilidade do reagente a luz.

4.2.3.1.2 Solução de Carbonato de Sódio (Na_2CO_3) 7,5%

Pesar em um béquer, 7,5 g de carbonato de sódio e solubilizar com água destilada. Transferir a solução para um balão volumétrico de 100 ml e avolumar com água destilada.

4.2.3.1.3 Solução de extração diluída - metanol a 7%

Medir 10 ml da solução aquosa de metanol 70% (solução extratora), transferir para um balão volumétrico de 100 ml e avolumar com água destilada.

4.2.3.1.4 Solução mãe de ácido gálico

Em um béquer revestido com papel alumínio, pesar 0,005 gramas de ácido gálico, adicionar a solução de diluição metanol 7% (descrito no tópico 4.2.3.1.3), até a solubilização do padrão. Transferir a solução para um balão volumétrico âmbar (ou revestido com papel alumínio) de 50 ml e aferir com metanol 7%.

4.2.3.2 Elaboração da curva padrão de ácido gálico

Para a construção da curva padrão, preparar diluições a partir da solução mãe de ácido gálico, conforme a Tabela 01.

Tabela 01 - Curva padrão do ácido gálico

Concentração Ácido gálico (mg/L)	Volume de solução mãe (ml)	Volume de solução aquosa de metanol 7% (ml)
5	0,5	9,5
10	1,0	9,0
20	2,0	8,0
40	4,0	6,0
60	6,0	4,0
80	8,0	2,0

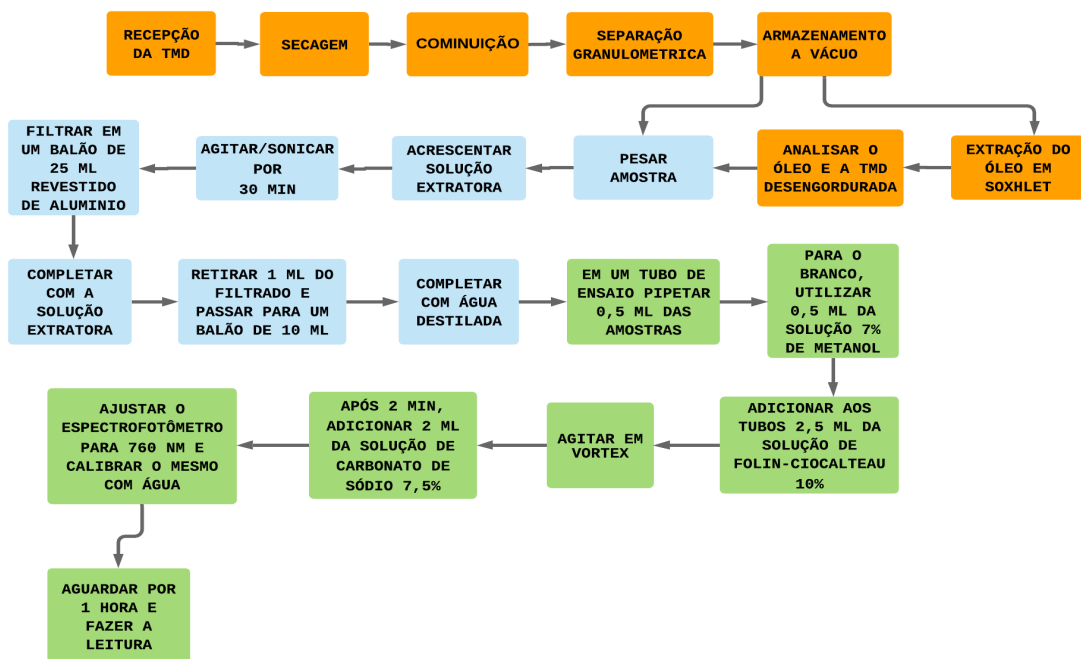
4.2.3.3 Procedimento experimental

Para avaliação do teor de fenólicos totais nas amostras, em um tubo de ensaio revestido com papel alumínio e com tampa, pipeta-se 0,5 ml da solução a ser analisada (extratos). Para o branco, utilizou-se 0,5 ml da solução de metanol 7%. Adicionar aos tubos 2,5 ml da solução de Folin-Ciocalteu 10%, agitar em agitador

de tubos (vortex) e deixar a temperatura ambiente por 2 minutos. Após os 2 minutos, adicionar 2,0 ml de solução de carbonato de sódio 7,5%, agitar em vortex e aguardar por 1 hora para fazer leitura do branco e das amostras. Ajustar o espectrofotômetro para 760 nm e calibrar o mesmo com água destilada. Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente escuro.

A figura 09 mostra as etapas do procedimento experimental.

Figura 09 - Fluxograma geral do processo



Legenda:

- PRÉ-TRATAMENTO
- PROCESSO DE EXTRAÇÃO
- ANÁLISE DOS FENÓLICOS

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da secagem e cominuição da TMD

A secagem e a cominuição da torta do mesocarpo do dendê foram realizadas em um pré-tratamento da amostra para iniciar o processo de extração. A secagem é importante para evitar a proliferação de fungos, diante um material com alto teor de água. A secagem foi realizada em estufa com temperatura de 60°C e 70°C durante 12 horas. As variáveis tempo e temperatura de secagem são de extrema importância quando analisamos os compostos fenólicos de uma matriz, os fenólicos são extremamente sensíveis ao calor, quando expostos a altas temperaturas ocorre a sua degradação. Após a secagem, foi possível observar uma redução no teor de umidade, as amostras em estufa de 70°C apresentaram maior degradação em relação as amostras presentes em estufa de 60°C, resultando em uma menor quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras em estufa de 70°C. A partir disso, podemos concluir que para resultados satisfatórios em relação aos compostos fenólicos, a temperatura de secagem ideal seria entre 40°C a 60°C, quanto maior a temperatura, menor o tempo em que a amostra deve ficar exposta em estufa.

A Cominuição da torta do mesocarpo do dendê resultou em um material de diferentes granulometrias, as granulometrias foram determinadas observando quais peneiras armazenavam uma maior quantidade de material, os resultados podemos verificar na Tabela 02.

Tabela 02 – Resultados da separação granulométrica da TMD.

Peneiras (mesh)	Diferença de Massa (g)	Percentual retido de massa (%)
28	4,05	4,15%
48	46,29	46,29%
60	15,96	15,96%
100	33,28	33,28%

Os resultados estatísticos demonstram que as peneiras de 48 mesh e 100 mesh, apresentaram maior retenção de material, sendo a de 48 mesh a que mais reteve. O RO-TAP de peneiras separou o material cominuído de acordo com o tamanho das fibras de TMD, ou seja, quanto mais comprida é a fibra maior é a sua dificuldade em passar pela trama da peneira de maior mesh, resultando em uma maior retenção de material. Diante disto, resolvemos analisar as granulometrias que apresentaram maior retenção de material, ou seja, as de 48 e 100 mesh.

Observou-se que o material de TMD que ficou retido na peneira de 100 mesh, apresentou uma coloração mais escura em relação as outras, evidenciando que ela é proveniente de uma parte mais interna do dendê.

5.2 Avaliação da extração de óleo utilizando Soxhlet

A partir desse processo, conseguimos obter a quantidade de lipídio presente em cada amostra analisada. A gordura é quantificada através do método gravimétrico (determina a quantidade proporcionada de um elemento presente em uma amostra), e está baseado na perda de peso do material submetido à extração com o solvente extrator. Para calcularmos a quantidade de lipídios presente, devemos considerar a massa do cartucho inserido no Soxhlet, a massa da amostra, a massa do cartucho com a amostra e o grampo (utilizado para fechar o cartucho), a massa do balão, a massa do cartucho após a extração e a massa do bolão com o óleo extraído. Podemos analisar os resultados na Tabela 03.

Tabela 03 - Dados referente à extração soxhlet

Cartucho (g)	5,1826±0,03
Amostra (g)	10,3860±0,25
Cartucho + Amostra+ Grampo (g)	15,6350±0,25
Balão Volumétrico (g)	159,36±0,15
Balão+óleo (g)	160,55±0,36
Cartucho após extração (g)	14,4336±0,025

Os resultados apresentados na tabela 03 demonstram a média e o desvio padrão do experimento realizado em triplicata, sendo possível determinar a quantidade de lipídios (extrato etéreo) presente na TMD. A % de lipídios presente pode ser determinada pela equação a seguir:

$$\text{LIPÍDIOS (\%)} = \frac{\text{PL} \times 100}{\text{P}} \quad (1)$$

PL = Peso do balão com óleo – Peso do balão antes da extração

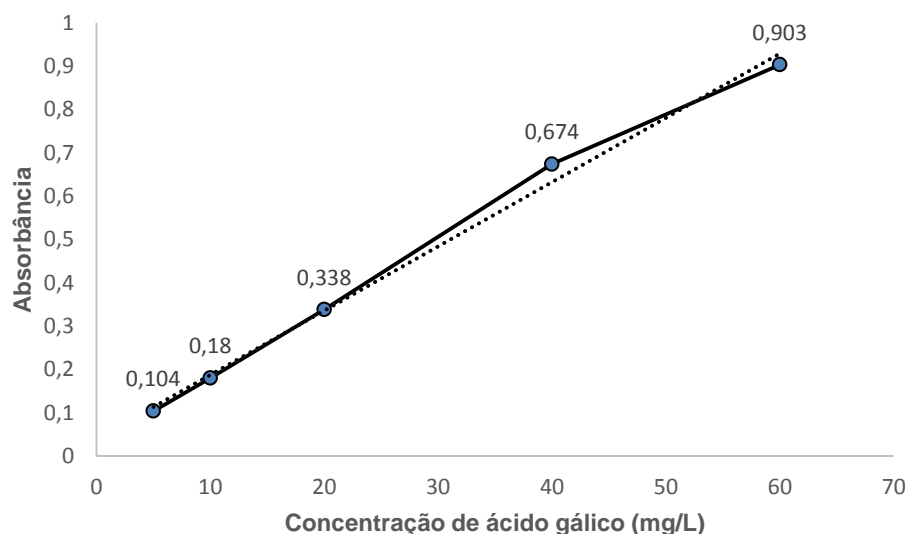
P = Peso da Amostra

A TMD com granulometria de 48 mesh apresentou um percentual de $11,42 \pm 0,10$. O percentual apresentado foi inferior ao reportado por Rodrigues Filho et al., (1998), que encontraram 12,09% de lipídios para torta de dendê e em torno de 6 a 7% descrito por Abdalla et al., (2008). A variação de teores de lipídios pode ser explicada pela influência do método de extração do óleo, assim como o solvente utilizado.

5.3 Avaliação da análise dos compostos fenólicos

A curva de calibração expressa no tópico 4.2.3.2 obteve um coeficiente de determinação superior a 0,99. A curva de calibração é apresentada na figura 10.

Figura 10 - Curva de calibração da absorbância versus a concentração de ácido gálico utilizada para determinação do teor de compostos fenólicos totais ($R^2 = 0,9978$), ($y = 0,0148x + 0,0394$)



O teor de fenólicos totais são expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico (mgEAG) por grama de extrato. Os resultados são apresentados na Tabela 04 e na Tabela 05, de acordo com a granulometria, razão sólido:solvente e o método de extração.

Tabela 04 - Teor de fenólicos em granulometria de 48 mesh e 100 mesh, temperatura de secagem de 60°C e extração com mesa agitadora

Amostra	Massa (g)	ABS(A)	X(mg/L)	Teor de fenólicos (mgEAG/g)
48 mesh 1:10	1,0673±0,03	0,100±0,04	9,419±0,30	2,2061±0,24
100 mesh 1:10	1,0179±0,05	0,107±0,02	9,891±0,21	2,3740±0,32
48 mesh 1:20	1,0135±0,02	0,104±0,02	9,711±0,29	2,3953±0,09
100 mesh 1:20	1,1304±0,05	0,246±0,06	19,283±0,51	4,2644±0,21

Resultados expressos como média e desvio padrão (triplicata)

Tabela 05 - Teor de fenólicos em granulometria de 48 mesh e 100 mesh, temperatura de secagem de 60°C e extração com ultrassom a 50°C

Amostra	Massa (g)	ABS(A)	X(mg/L)	Teor de fenólicos (mgEAG/g)
48 mesh 1:10	1,0022±0,02	0,134±0,04	11,738±0,34	2,9290±0,16
100 mesh 1:10	1,0029±0,03	0,137±0,02	11,941±0,24	2,9774±0,10
48 mesh 1:20	1,0045±0,02	0,145±0,04	12,482±0,38	3,1298±0,18
100 mesh 1:20	1,0232±0,04	0,166±0,02	13,878±0,21	3,3908±0,10

Resultados expressos como média e desvio padrão (triplicata)

Ao compararmos a tabela 04 e a tabela 05, podemos observar um maior rendimento de extração nas amostras com razão sólido:solvente de 1:20, ou seja, a maior concentração de compostos fenólicos foi obtida em maiores volumes de solvente. Em condições mais diluídas o gradiente de concentração do sistema sólido:solvente é maior, portanto, uma maior quantidade de compostos fenólicos é difundida no interior do sólido para o solvente. Souza, (2013) ao extrair fenólicos totais da torta de girassol, apresenta uma maior concentração de compostos fenólicos em um aumento da razão sólido:solvente.

É possível observar também que o teor de compostos fenólicos esteve mais presente nas granulometrias de 100 mesh, demonstrando que quanto menor as partículas, maior a obtenção dos compostos fenólicos. Partículas com dimensões homogêneas aumentam a área de contato entre o material vegetal e o líquido extrator, podendo aumentar, conseqüentemente, a eficiência da extração.

Em relação aos métodos de extração utilizados, tivemos uma maior eficiência na extração de compostos fenólicos em ultrassom, em relação ao método convencional utilizando a mesa agitadora. Isso pode ser explicado devido a frequência e a temperatura de 50°C exercida pelo ultrassom. A frequência acarreta um aumento considerável na cavitação, conseqüentemente, um aumento da transferência de massa do sólido para o solvente. Quando utilizamos o ultrassom em uma temperatura relativamente elevada em relação a temperatura ambiente, conseguimos obter uma maior quantificação de fenólicos, devido ao aumento da solubilidade dos compostos fenólicos, da taxa de difusão e da taxa de extração devido a viscosidade e da tensão superficial do solvente. No entanto, o aumento elevado da temperatura pode promover a degradação dos compostos fenólicos proporcionados pelas modificações na sua estrutura química.

Na tabela 06, encontra-se os resultados referentes as análises do teor de fenólicos na torta de 48 mesh (seca em estufa a 60°C) desengordurada em soxhlet e do óleo resultante da extração. Na tabela 07 apresentamos os resultados das análises de amostras que passaram pelo processo de secagem em uma temperatura de 70°C.

Tabela 06 - Resultado do teor de fenólicos em granulometria de 48 mesh, após processo de desengorduramento em soxhlet, utilizando uma razão sólido:solvente de 1:20

Amostra	Massa (g)	Média ABS(A)	X(mg/L)	Teor de fenólicos (mgEAG/g)
Óleo - Mesa agitadora	1,0989±0,09	0,002±0,02	2,663±0,02	0,6060±0,06
Torta - Mesa agitadora	1,0340±0,03	0,066±0,03	7,121±0,30	1,7232±0,05
Óleo - Ultrassom	1,0851±0,03	0,005±0,02	3,045±0,17	0,7040±0,06
Torta - Ultrassom	1,0157±0,06	0,075±0,04	7,774±0,34	1,9135±0,14

Resultados expressos como média e desvio padrão (triplicata)

Tabela 07 – Resultado do teor de fenólicos de amostras em secagem de 70°C, em um razão sólido:solvente de 1:20

Amostra	Massa (g)	Média ABS(A)	X(mg/L)	Teor de fenólicos (mgEAG/g)
48 mesh Mesa Agitadora	1,0413±0,07	0,081±0,04	8,157±0,38	1,9583±0,15
100 mesh Mesa Agitadora	1,0800±0,03	0,087±0,02	8,540±0,49	1,9769±0,08
48 mesh Ultrassom	1,0046±0,03	0,013±0,02	3,563±0,24	0,8866±0,16
100 mesh Ultrassom	1,0648±0,05	0,094±0,03	9,036±0,20	2,1214±0,16

Resultados expressos como média e desvio padrão (triplicata)

Na tabela 06, observamos uma quantificação do teor de fenólicos bem inferior em relação a torta de mesocarpo do dendê que não passou pelo processo de

desengorduramento. Esse fato pode ser explicado pela exposição dos compostos a altas temperaturas durante o processo de extração do óleo em soxhlet, ocasionando sua degradação. Ao analisarmos a tabela 07, constatamos um menor teor de fenólicos em amostras que passaram por um processo de secagem em uma temperatura de 70°C, ou seja, a exposição de compostos fenólicos em altas temperaturas provocam sua degradação, diminuindo assim, o seu teor ao quantificarmos. Podemos observar um maior teor de fenólicos na torta, em relação ao óleo, o que pode caracterizar uma menor solubilidade dos compostos fenólicos no óleo.

No que se refere a extração utilizando metanol a 70%, a presença de água permitiu obter maiores quantidades de componentes, intensificando a extração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante. Para Rodrigues et al (2004) a utilização de água pode otimizar a extração de compostos fenólicos, pois aumenta a polaridade da solução extrativa.

5.3.1 Análise estatística dos parâmetros utilizados na extração dos compostos fenólicos

Para avaliar a significância das variáveis, bem como suas interações da extração dos compostos fenólicos, realizou-se a análise da variância (ANOVA) e o teste de Tukey. Através do teste de Tukey é possível observar que a razão sólido:solvente teve significância ao influenciar os resultados na extração utilizando o método convencional, em contrapartida o parâmetro granulometria não houve variação significativa na proporção de 1:10. Verifica-se uma variação significativa de granulometria na razão sólido:solvente de 1:20, como podemos observar na tabela 08.

Tabela 08 - Teste de Tukey para os parâmetros de extração razão sólido:solvente e granulometria para o método de extração convencional

Mesh	1:10	1:20
48	2,2061±0,24 Ba	2,3953±0,09 Ab
100	2,3740±0,32 Ba	4,2644±0,21 Aa

Resultados expressos como média e desvio padrão (triplicata)

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si no intervalo de confiança de 95%

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si no intervalo de confiança de 95%

Ao analisarmos os dados estatísticos da tabela 05 referente a extração utilizando o método alternativo ultrassom, observamos Através do teste de Tukey

que a razão sólido:solvente teve significância ao influenciar os resultados na extração utilizando o método alternativo do ultrassom, em contrapartida o parâmetro granulometria não houve variação significativa na proporção de 1:10. Verifica-se uma variação significativa de granulometria na razão sólido:solvente de 1:20, conforme demonstra na tabela 09.

Tabela 09 - Teste de Tukey para os parâmetros de extração razão sólido:solvente e granulometria para o método de extração usando ultrassom

Mesh	1:10	1:20
48	2,9290±0,16 Ba	3,1298±0,18 Ab
100	2,9774±0,10 Ba	3,3908±0,10 Aa

Resultados expressos como média e desvio padrão (triplicata)

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si no intervalo de confiança de 95%

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si no intervalo de confiança de 95%

Quando verificamos os dados estatísticos dos métodos de extração utilizados, observamos que houve uma variação significativa ao utilizarmos o ultrassom, demonstrando ser um método de extração mais eficiente nas condições adotadas neste trabalho. Podemos comprovar esses dados na tabela 10.

Tabela 10 - Teste de Tukey para comparação dos métodos de extração em razão sólido:solvente de 1:10

Mesh	Mesa agitadora	Ultrassom
48	2,2061±0,24 Ba	2,9290±0,16 Aa
100	2,3740±0,32 Ba	2,9774±0,10 Aa

Resultados expressos como média e desvio padrão (triplicata)

Letras maiúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si no intervalo de confiança de 95%

Letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si no intervalo de confiança de 95%

6 CONCLUSÃO

Verificou-se neste trabalho que parâmetros como a granulometria, a razão sólido:solvente, a temperatura de secagem, a temperatura de extração e o método de extração utilizado, interferem na eficiência da quantificação dos compostos fenólicos.

Fica evidenciado que o teor de composto fenólicos depende de parâmetros, os quais podem determinar uma extração ótima, possibilitando uma quantificação do teor de fenólicos com maior eficiência. Os parâmetros em questão são: uma razão sólido:solvente baixa, tamanho de partículas pequenas e homogêneas, ou seja, uma granulometria com baixo mesh, uma temperatura equilibrada, pois a temperatura auxilia no processo de solubilidade da amostra no solvente, porém altas temperaturas degradam os fenólicos, a utilização de um solvente com a água, tendo em vista que extração com solventes puros apresentam menor rendimento, e um dos parâmetros mais importantes diante ao avanço tecnológico e da necessidade de melhoras no processo de extração dos fenólicos, a utilização do Ultrassom fornece melhores resultados em relação ao método convencional.

Para trabalhos futuros recomenda-se o uso do etanol como solvente, devido o uso do metanol não ser recomendado em alimentos, uma vez que o mesmo apresenta características tóxicas e podem acarretar sérios problemas a saúde humana. Outra recomendação viável seria a secagem do material que irá ser analisado, em uma estufa com temperatura de 40°C, devido os compostos fenólicos serem sensíveis ao calor, verificar se esse parâmetro terá alteração significativa na extração e quantificação do teor de fenólicos.

REFERÊNCIAS

- ACHKAR, Marina Teixeira. Et al. **Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos**. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 11, n. 2, p. 398-406, ago./dez. 2013
- ALVES, Clayton Q. et al . **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos**. Quím. Nova, São Paulo , v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- Atkins, P.W., Jones, L., **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. 5ª ed., Porto Alegre: Ed. Bookman, 2012.
- BEHLING, Estela Beatriz . Et al. **Flavonóide Quercetina: aspectos gerais e ações biológicas**. Alim. Nutr., Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BIANCHI, Maria de Lourdes Pires. ANTUNES, Lusânia Maria Greggii. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta**. Rev. Nutr12(2): p. 123-130. Campinas. maio/ago 1999.
- BOARI, Alessandra de Jesus. **Estudos realizados sobre o amarelecimento fatal do dendezeiro**. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 2008.
- BORGES, Adriana de Jesus. COLLICCHIO, Erich. CAMPOS, Gustavo Azevedo. **A cultura da palma de óleo (Elaeis guineenses Jacq.) no Brasil e no mundo: aspectos agronômicos e tecnológicos - uma revisão**. Revista Liberato, Novo Hamburgo, v. 17, n. 27, p. 01-118, jan./jun. 2016
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diagnóstico da Produção Sustentável da Palma de Óleo no Brasil**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília : Mapa/ACE, 2018.
- CÉSAR, A. da S.; BATALHA, M. O. **“Biodiesel in Brazil: history and relevant policies.”** Journal of Agricultural Research, v.5, p.1147-1153. 2010.
- DEGANI, A. L. G. CASS, Q. B. VIEIRA, P. C. **Cromatografia um breve ensaio**. QUÍMICA NOVA NA ESCOLA Cromatografia N° 7, São Carlos, mai. 1998.
- DOSSIÊ, Óleos. **Óleo de palma e derivados para a indústria de alimentos**. FOOD INGREDIENTS BRASIL N° 31. 2014. Disponível em: http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201606/2016060140375001466789854.pdf. Acesso em 10 jun. 2019
- FEROLDI, Michael. CREMONEZ, Paulo André. ESTEVAM, Andressa. **Dendê: do cultivo da palma à produção de biodiesel**. Revista Monografias Ambientais - REMOA v.13, n.5, dez. 2014, p.3800-3808 Revista do Centro do Ciências Naturais e Exatas - UFSM, Santa Maria; 2014.

FILHO, José Manoel Moura. Et al. **Determinação do solvente ótimo para extração dos compostos fenólicos do fruto de buriti**. Brazilian Journal of Food Research, Campo Mourão, v. 8 n. 3, p. 22-28, jul./set. 2017

GLASS, V. Expansão do Dendê na Amazônia. São Paulo: Repórter Brasil, 2013. p.5

H. G. O. Becker et al., **ORGANIKUM Química Orgânica Experimental**, Fundação Calouste Gulbenkian, 2ª Edição, Lisboa, 1997.

HOMMA, A.K.O; FURLAN JÚNIOR, J.; CARVALHO, R.A.; FERREIRA, C. A. P. **Bases para uma política de desenvolvimento da cultura do dendezeiro na Amazônia**. In: VIEGAS, I. de J.M., MÜLLER, A. A. (Ed.). A cultura do dendezeiro na Amazônia Brasileira. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2000. p.11-30.

KHODDAMI, A., WILKES, M., & Roberts, T. **Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds**. Molecules, 18(2), 2328–2375. doi:10.3390/molecules18022328. 2013.

LEONARDIS, A. D., & MACCIOLA, V. (2003). **Effectiveness of caffeic acid as an anti-oxidant for cod liver oil**. International Journal of Food Science and Technology, 38(4), 475–480. doi:10.1046/j.1365-2621.2003.

MAUL, Aldo Adolar; WASICKY, Roberto; BACCHI, Elfriede Marianne. **Extração por fluido supercrítico**. Rev. bras. farmacogn., São Paulo, v. 5, n. 2, p. 185-200, 1996. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X1996000200006&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 06 jun. 2019.

MAUL, Aldo Adolar; WASICKY, Roberto and **BACCHI, Elfriede Marianne**. **Extração por fluido supercrítico**. Rev. bras. farmacogn. [online]. vol.5, n.2, pp.185-200. ISSN 0102-695X. 1996.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. **Capacidade antioxidante de frutas**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, São Paulo, v. 44, n. 2, 2008.

MORAIS, João Paulo Saraiva et al. **Valorização de coprodutos da cadeia do dendê**. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

NAHUM, João Santos. SANTOS, Cleison Bastos dos. **Dendê para quê? Dendê para quem? A ideologia da fronteira na Amazônia paraense**. Rev. NERA. Ano 21, pp. 113-134. ISSN: 1806-6755 Presidente Prudente. 2018.

NEVES, L. C. et al. **Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de Apis mellifera**. Braz. J. Food Technol., VII BMCFB, São Paulo, junho 2009

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. **Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results**. Food Research International, v.41, p.272-285, 2008

PICÓ, Yolanda. **Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples.** *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 43. p. 84-99. Valencia. February 2013.

ROCHA, Wesley Silveira. et al. **Compostos Fenólicos Totais E Taninos Condensados em frutas nativas do cerrado.** *Rev. Bras. Frutic.*, v. 33, n. 4, p. 1215-1221. JABOTICABAI. dez. 2011.

SARKIS, J.R. et al. **J Am Oil Chem Soc** (2014) 91: 1773. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11746-014-2514-2>. Acesso em 12 jun.2019.

SARTORI, Juliana Aparecida de Souza. Et. al. **Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total.** *Biosci. J.*, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 297-307, Mar./Apr. 2013.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. **Byproducts of plant food processing as a source of functional compounds: recent developments.** *Trends Food Science Technology*, Cambridge, v. 12, n. 11, p. 401-413, 2001.

SHI, L.-E.; ZHANG, Z.-L.; XING, L.-Y.; YANG, D.-D.; GUO, Y.-P.; GUO, X.-F.; ZHAO, L.- M.; TANG, Z.-X. **Antioxidants extraction by supercritical CO₂.** *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 5, n. 3, p. 300-308, 2011.

SILVA, Camila da. GARCIA, Vitor Augusto dos Santos. FRANCISCATO, Lidaiane Mariah Silva dos Santos. **Extração Assistida por Ultrassom de Compostos Bioativos das Cascas de Lichia (Litchi Chinensis Sonn).** *Revista Ciências Exatas e Naturais*, Vol. 18, nº 1, UMUARAMA. Jan/Jun 2016

SILVA, Marília Lordêlo Cardoso. Et al. **Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais.** *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 3, p. 669-682, Londrina, jul./set. 2010.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.Jr. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.** *American Journal of Enology and Viticulture*, Davis, v.16, n.3, p.144-158, 1965.

SINGLETON, Vernon L. ORTHOFÉ, Rudolfr. RAVENTÓ, Rosa M.Lamuela- **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent.** In: *Methods in Enzymology*, vol. 299, p. 152-178, 1999.

SUFRAMA, Superintendência Adjunta de Planejamento e Desenvolvimento Regional Coordenação de Identificação de Oportunidades de Investimentos Coordenação Geral de Comunicação Social. **Projeto potencialidades regionais: estudos de viabilidade econômica, dendê.** Manaus. 2003.

TSUKUI, A.; Rezende, C. M. **Extração Assistida por Micro-ondas e Química Verde** *Rev. Virtual Quim.* Vol 6. No. 6. p. 1713-1725. Rio de Janeiro. 2014.

VEBER, J. et al . **Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão** (*Syzygium cumini*L.). Rev. bras. plantas med., Botucatu , v. 17, n. 2, p. 267-273, jun. 2015 . Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722015000200267&lng=pt&nrm=iso . Acesso em 07 jun. 2019.