



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ISABELA FERREIRA MORENO

APROVEITAMENTO DA AMÊNDOA DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.):
EXTRAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO E LÍQUIDOS PRESSURIZADOS.

RECOVERY OF PEQUI ALMOND (*Caryocar brasiliense* Camb.): EXTRACTION WITH
SUPERCRITICAL CO₂ AND PRESSURIZED LIQUIDS.

CAMPINAS

2023

ISABELA FERREIRA MORENO

APROVEITAMENTO DA AMÊNDOA DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.):
EXTRAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO E LÍQUIDOS PRESSURIZADOS.

RECOVERY OF PEQUI ALMOND (*Caryocar brasiliense* Camb.): EXTRACTION WITH
SUPERCRITICAL CO₂ AND PRESSURIZED LIQUIDS.

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Engenharia de Alimentos.

Dissertation presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master, in the area of Food Engineering.

Orientador: Julian Martínez

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ALUNA ISABELA
FERREIRA MORENO, E ORIENTADA
PELO PROF. DR. JULIAN MARTÍNEZ

CAMPINAS

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

M815a Moreno, Isabela Ferreira, 1996-
Aproveitamento da amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) :
extração com CO₂ supercrítico e líquidos pressurizados / Isabela Ferreira
Moreno. – Campinas, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Julian Martínez.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Engenharia de Alimentos.

1. Fluidos pressurizados. 2. Compostos fenólicos. 3. Extração. 4. Resíduos
industriais. 5. Óleos vegetais. I. Martínez, Julian. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Recovery of pequi almond (*Caryocar brasiliense* Camb.) :
extraction with supercritical CO₂ and pressurized liquids

Palavras-chave em inglês:

Pressurized fluids

Phenolic compounds

Extraction

Factory and trade waste

Vegetable oils

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestra em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Julian Martínez [Orientador]

Ana Carolina de Aguiar

Bruno Guzzo da Silva

Data de defesa: 08-03-2023

Programa de Pós-Graduação: Engenharia de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-4049-6165>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8378710484307772>

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Julian Martínez

Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos

Prof. Dra. Ana Carolina de Aguiar

Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia de Alimentos

Prof. Dr. Bruno Guzzo da Silva

Universidade Federal do ABC – Centro de Ciências Naturais e Humanas

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo o que tem feito na minha vida e todas as oportunidades que me proporcionou ao longo dos anos.

A minha família pelo suporte e apoio emocional em todos os momentos, me incentivando a cada passo, em especial a minha mãe, Alba Lúcia e meu pai Jusley.

Obrigada a todos os amigos que me deram suporte e me ouviram quando precisei. Amanda, Anna, Dhayna, Enylson, Felipe, Gabriel, João, Luciedry, Marcelo, Maria Clara, Rafael, Tiago, Victor, vocês foram pessoas que eu conheci durante o mestrado e que se tornaram muito especiais. E Eduardo, muito obrigada a você também que me acompanha a mais tempo e que sempre me deu suporte e tranquilidade.

Agradeço aos meus colegas, do LAPEA, Amanda, Camilla, Débora, Erick, Luciedry, Mariana, Rayanne, Victor, por toda ajuda, suporte, informação e conhecimento.

Ao professor Julian que aceitou me orientar para a realização desse trabalho, por sempre estar acessível quando precisei, por todo apoio e fornecimento de informações.

A Ana Carolina de Aguiar e Bruno Guzzo da Silva pela participação na minha banca de defesa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

A extração do óleo e de compostos apolares da amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) foi realizada com CO₂ supercrítico e a extração dos compostos fenólicos da amêndoa foi feita na sequência com líquidos pressurizados. A extração com CO₂ supercrítico (SFE) foi realizada nas pressões de 15, 25 e 35 MPa e temperaturas de 40, 50 e 60 °C. Os extratos da SFE foram caracterizados em relação ao rendimento global, carotenoides totais, tocóis, perfil de ácidos graxos, análise térmica da fusão e cristalização do óleo por calorimetria diferencial de varredura (DSC) e composição de glicerídeos e triacilgliceróis. A extração com líquidos pressurizados (PLE) dos compostos fenólicos foi feita a partir dos resíduos da SFE realizada a 35 MPa e 40 °C, com proporções de etanol em água no solvente de 50, 75 e 100%, nas temperaturas de 60, 85 e 110 °C e em pressão constante de 10 MPa. Os extratos da PLE foram caracterizados quanto ao rendimento global, capacidade antioxidante pelos métodos ORAC e FRAP, fenólicos totais, e foi feita a identificação e quantificação do ácido elágico, composto fenólico identificado nos extratos, por HPLC. As melhores condições da SFE para a obtenção de óleo da amêndoa de pequi foram 25 MPa e 50 °C e 35 MPa a 40 e 50 °C, com rendimentos globais de 38, 45 e 38% (m/m), respectivamente. As maiores concentrações de carotenoides totais, α -tocoferol e β/γ -tocoferol foram de 40,01 β -caroteno/100 g de amêndoa, 112,45 e 68,41 $\mu\text{g/g}$ de óleo, respectivamente. Os extratos da SFE são compostos por cerca de 95% de triacilgliceróis, com destaque para o POO (Palmítico, Oleico, Oleico) e POP (Palmítico, Oleico, Palmítico). Os principais ácidos graxos encontrados no óleo foram o oleico e o palmítico. As melhores condições da PLE foram na concentração de solvente de 75% de etanol e temperaturas de 110 e 85 °C. Foi identificado o ácido elágico, com concentrações de 332,20 a 615,00 $\mu\text{g/mL}$ de extrato líquido. As capacidades antioxidantes dos extratos da PLE foram de 49,49 e 55,08 mg ET/g amêndoa (base seca) para ORAC e FRAP, respectivamente. Pode-se concluir que a amêndoa de pequi apresenta grande potencial nutricional e tecnológico. Além disso, a SFE e a PLE são boas alternativas para extração do óleo e outros compostos de interesse desta matriz vegetal que é um resíduo agroindustrial de um importante produto da biodiversidade brasileira.

Palavras-chave: Fluidos pressurizados; compostos fenólicos; extração; resíduos industriais; óleos vegetais.

ABSTRACT

The extraction of oil and non-polar compounds from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almonds was performed with supercritical CO₂ and the extraction of phenolic compounds from the almond was performed sequentially with pressurized liquids. Supercritical CO₂ extraction (SFE) was carried out at pressures of 15, 25 and 35 MPa and temperatures of 40, 50 and 60 °C. The SFE extracts were characterized in terms of global yield, total carotenoids, tocopherols, fatty acid profile, thermal analysis of oil melting and crystallization by differential scanning calorimetry (DSC) and composition of glycerides and triacylglycerols. Pressurized liquid extraction (PLE) of phenolic compounds was performed from the almonds defatted by SFE at 35 MPa and 40 °C, with proportions of ethanol in water of 50, 75 and 100% as solvent, at temperatures of 60, 85 and 110 °C and constant pressure of 10 MPa. The PLE extracts were characterized in terms of global yield, antioxidant capacity by ORAC and FRAP methods, total phenolics, and the identification and quantification of ellagic acid, an identified phenolic compound, by HPLC. The best SFE conditions for pequi almond oil were 25 MPa and 50 °C and 35 MPa at 40 and 50 °C, with global yields of 38, 45 and 38% (m/m), respectively. The highest concentrations of total carotenoids, α -tocopherol and β/γ -tocopherol were 40.01 β -carotene/100 g of almond; 112.45 and 68.41 $\mu\text{g/g}$ of oil, respectively. The SFE extracts are composed of around 95% triacylglycerols, with predominance of POO and POP. The major fatty acids found in the oil were oleic and palmitic. The best PLE conditions were at the solvent concentration of 75% ethanol at 110 and 85 °C. Ellagic acid was identified, with concentrations from 332.20 to 615.00 $\mu\text{g/mL}$ of liquid extract. The antioxidant capacities of the PLE extracts were 49.49 and 55.08 mg TE/g almond (dry basis) for ORAC and FRAP, respectively. It can be concluded that pequi almonds have excellent nutritional and technological potential. Furthermore, SFE and PLE are good alternatives for the extraction of oil and other target compounds from this vegetal matrix, which is an agro-industrial residue of an important product from Brazilian biodiversity.

Keywords: Pressurized fluids; phenolic compounds; extraction; factory and trade waste; vegetable oils.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Pequizeiro.....	17
Figura 2. Partes do pequi; 1. epicarpo; 2. mesocarpo; 3. endocarpo; 4. tegumento; 5. amêndoa.	18
Figura 3. Amêndoa de pequi.	21
Figura 4. Estrutura química geral de um ácido graxo.....	24
Figura 5. A. Estruturas básicas dos carotenoides; B. Estruturas típicas dos carotenos e xantofilas.	27
Figura 6. Estrutura química geral de um composto fenólico.....	28
Figura 7. Estrutura química geral dos tocóis.	30
Figura 8. Diagrama de fases de uma substância pura.....	31
Figura 9. Diagrama das atividades realizadas nesta dissertação.	38
Figura 10. Amostras da amêndoa de pequi; 1. Amêndoa inteira; 2. Amêndoa triturada.	39
Figura 11. Unidade de SFE do LAPEA.....	42
Figura 12. Diagrama da unidade de extração por SFE. V-1 a V-6 = Válvulas de bloqueio; V-7 = Válvula micrométrica; VS = Válvula de segurança; C = Compressor; F = Filtro de ar; FC = Filtro de CO ₂ ; BR = Banho de refrigeração; PA = Bomba de CO ₂ ; BA = Banho de aquecimento; CE = Célula de extração com camisa de aquecimento elétrico; I-1, I-2 e I-3 = Indicadores de pressão; I-4 = Indicadores de temperatura; IC: Controlador de temperatura (válvula micrométrica); F = Medidor de vazão; R = Totalizador de fluxo.	43
Figura 13. Amêndoa de pequi desengordurada por SFE.	44
Figura 14. Unidade de PLE do LAPEA.	45
Figura 15. Diagrama da unidade de extração de PLE. V-3 a V-6 = Válvulas de bloqueio; V-7 = Válvula micrométrica; VS = Válvula de segurança; BA = Banho de aquecimento; CE = Célula de extração com camisa de aquecimento elétrico; R = Reservatório do solvente; B = Bomba de HPLC; I-1, I-2 e I-3 = Indicadores de pressão; I-4 = Indicadores de temperatura; IC: Controlador de temperatura (válvula micrométrica); F = Medidor de vazão; F = Totalizador de fluxo.....	46

Figura 16. Curvas de rendimento global (X_0) obtidas na SFE de amêndoa de pequi nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressões de 15, 25 e 35 MPa.	55
Figura 17. Extrato obtido por SFE da amêndoa de pequi a 35 MPa e 40 °C.	56
Figura 18. Concentrações de tocoferóis nos extratos obtidos por SFE em diferentes condições de temperatura e pressão.....	60
Figura 19. Concentrações de tocotrienóis nos extratos obtidos por Soxhlet e por SFE em diferentes condições de temperatura e pressão.....	61
Figura 20. Curvas de fusão e cristalização dos extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE.	67
Figura 21. Extratos obtidos por PLE da amêndoa desengordurada de pequi a 110 °C com 75% de etanol em água, de 5 a 60 minutos de extração; 1) 5 min; 2) 10 min; 3) 15 min; 4) 20 min; 5) 30 min; 6) 40 min; 7) 50 min; 8) 60 min.....	68
Figura 22. Curvas de rendimento global (X_0) da PLE de amêndoa de pequi desengordurada com concentrações de etanol em água de 50, 75 e 100% e temperaturas de 60, 85 e 110 °C.	70
Figura 23. Curvas de PLE fenólicos totais (FT) de amêndoa de pequi desengordurada nas temperaturas de 60, 85 e 110 °C e proporções de etanol em água de 50, 75 e 100%.	73
Figura 24. Quantidade de ácido elágico extraído em função tempo de extração na PLE de amêndoa desengordurada de pequi nas melhores condições de obtenção de fenólicos.	75
Figura 25. Capacidade antioxidante dos extratos determinada por ORAC em função do tempo de PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.....	78
Figura 26. Capacidade antioxidante dos extratos determinada por FRAP em função do tempo PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade produzida de Pequi e valor da produção por extrativismo vegetal nos anos de 2017, 2018, 2019, 2020 e 2021.....	19
Tabela 2. Perfil de aminoácidos (AAS) da amêndoa de pequi.....	22
Tabela 3. Quantidade de amêndoa de pequi extraída e valor da produção e da amêndoa de pequi, adquiridos por extrativismo vegetal nos anos de 2017, 2018, 2019, 2020 e 2021.....	23
Tabela 4. Classificação dos ácidos graxos de acordo com o número de átomos de carbono...24	
Tabela 5. Diferentes nomenclaturas para ácidos graxos encontrados em alimentos.....	25
Tabela 6. Principais compostos fenólicos, família, estrutura básica e fontes.....	29
Tabela 7. Condições ótimas de extração de óleo de sementes e amêndoas com o uso de CO ₂ supercrítico.	33
Tabela 8. Compostos extraídos em diferentes amostras e condições com o uso da PLE.....	36
Tabela 9. Composição centesimal da amêndoa de pequi em base seca.	53
Tabela 10. Rendimentos globais da SFE de amêndoa de pequi nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressões de 15, 25 e 35 MPa.	54
Tabela 11. Concentração de carotenoides totais nos extratos obtidos por SFE de amêndoa de pequi na menor e maior densidade de CO ₂	57
Tabela 12. Concentrações de tocoferóis e tocotrienóis nos extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressões de 15, 25 e 35 MPa.....	59
Tabela 13. Compostos glicérideos dos extratos de amêndoa de pequi obtidos por Soxhlet e por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.....	62
Tabela 14. Composição de triacilgliceróis dos extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.....	63
Tabela 15. Perfil de ácidos graxos dos extratos amêndoa de pequi obtidos por Soxhlet e por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.....	64
Tabela 16. Parâmetros determinados por DSC para os extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.	66

Tabela 17. Rendimentos globais dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE com concentrações de etanol em água de 50, 75 e 100% e temperaturas de 60, 85 e 110°C.	69
Tabela 18. Concentrações de fenólicos totais dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE com concentrações de etanol em água de 50, 75 e 100% e temperaturas de 60, 85 e 110 °C.	72
Tabela 19. Compostos padrões utilizados para a análise de identificação de compostos fenólicos para extratos da amêndoa de pequi obtidos por PLE.....	74
Tabela 20. Concentrações de ácido elágico nos extratos obtidos por PLE da amêndoa de pequi desengordurada nas melhores condições de obtenção de fenólicos.	75
Tabela 21. Capacidade antioxidante por ORAC dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada, obtidos por PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.	77
Tabela 22. Capacidade antioxidante por FRAP dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada, obtidos por PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1.	OBJETIVO GERAL	16
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1.	PEQUI.....	17
3.2.	AMÊNDOA DE PEQUI.....	20
3.3.	CONSTITUINTES BIOATIVOS.....	23
3.3.1.	Ácidos Graxos e Triacilgliceróis	23
3.3.2.	Carotenoides	26
3.3.3.	Compostos Fenólicos.....	28
3.3.4.	Tocóis	30
3.4.	EXTRAÇÃO COM CO ₂ SUPERCRÍTICO (SFE)	31
3.5.	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDOS PRESSURIZADOS (PLE).....	34
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1.	MATÉRIA- PRIMA	39
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA- PRIMA	39
4.2.1.	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	39
4.3.	EXTRAÇÃO COM FLUÍDO SUPERCRÍTICO (SFE).....	41
4.4.	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDOS PRESSURIZADOS (PLE).....	43
4.5.	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRADOS OBTIDOS POR SFE.....	46
4.5.1.	Rendimento global (X ₀)	47
4.5.2.	Carotenoides totais	47
4.5.3.	Composição de tocóis.....	47
4.5.4.	Composição de glicerídeos.....	48
4.5.5.	Composição de triacilgliceróis	48
4.5.6.	Perfil de ácidos graxos.....	48
4.5.7.	Análise Térmica.....	49
4.6.	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRADOS OBTIDOS POR PLE	49
4.6.1.	Rendimento global (X ₀)	49
4.6.2.	Fenólicos totais	49
4.6.3.	Identificação e quantificação de compostos fenólicos	50

4.6.4.	Capacidade antioxidante.....	51
4.7.	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1.	COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	53
5.2.	SFE.....	54
5.2.1.	Rendimento global (X_0)	54
5.2.2.	Composição de carotenoides totais.....	57
5.2.3.	Composição de tocóis.....	58
5.2.4.	Composição de glicerídeos e triacilgliceróis	62
5.2.5.	Perfil de ácidos graxos.....	64
5.2.6.	Análise Térmica.....	65
5.3.	PLE	68
5.3.1.	Rendimento global (X_0)	68
5.3.2.	Concentração de fenólicos totais	71
5.3.3.	Identificação e quantificação de compostos fenólicos	74
5.3.4.	Capacidade antioxidante.....	76
6	CONCLUSÃO	80
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
	APÊNDICES	99

1 INTRODUÇÃO

O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) é um fruto nativo do cerrado brasileiro que possui grande influência na economia local, uma vez que é fonte principalmente de atividade extrativista, tendo o estado de Minas Gerais como o maior produtor (IBGE, 2021; MACIEL et al., 2018). Seu consumo tem aumentado gradativamente, e o fruto é matéria-prima de várias preparações culinárias como doces, licores e farofas (MARTINS et al., 2021).

Em sua composição, o pequi apresenta cerca de 76% de casca, 13% de caroço, 9% de polpa e 2% de amêndoa, que varia de acordo com a região produtora (MOURA et al., 2013; VERA et al., 2005). Além disso, na polpa e na amêndoa há a presença de compostos fenólicos, carotenoides, ácidos graxos, riboflavina, tiamina e vitamina A. A amêndoa se destaca com maiores teores de lipídios, proteínas e fibras, com aproximadamente 50%, 30% e 10%, respectivamente (ARAÚJO et al., 2018; AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; LIMA et al., 2007; SOUSA et al., 2011).

O processamento do pequi é majoritariamente artesanal. Os produtores retiram a polpa e a amêndoa com o auxílio de facas e o óleo é obtido através do cozimento destes em água (MACIEL et al., 2018). Em grande parte dos casos a amêndoa é tratada como resíduo, em consequência da dificuldade da sua extração e dos espinhos que a envolvem (PAIVA et al., 2012). Gonçalves (2005) desenvolveu um equipamento que contribui para a solução deste problema, que realiza a extração do óleo por prensa mecânica e faz a separação dos espinhos por um processo de centrifugação. Considerando os altos teores de lipídios da amêndoa, esse equipamento a torna uma fonte ainda mais atrativa para o processamento.

Métodos de extração com fluídos supercríticos (SFE – *Supercritical Fluid Extraction*) com o uso de CO₂, e com líquidos pressurizados (PLE - *Pressurized Liquid Extraction*), com o uso de etanol e água, apresentam-se como boas alternativas para a obtenção de óleos e outros compostos de interesse, pelo fato de utilizarem “solventes verdes” e de serem técnicas complementares, com as quais pode-se extrair compostos apolares e polares, respectivamente (BERMEJO et al., 2015; SAHENA et al., 2009). Assim, estes métodos podem ser mais benéficos em relação aos métodos de extração industriais que usam n-hexano, devido às baixas toxidades dos solventes, e à extração por prensagem mecânica, pela maior eficiência na obtenção de compostos bioativos como carotenoides, compostos fenólicos e tocóis

(FREITAS et al., 2008; GALLEGO, 2019; GUARIENTI et al., 2012; SOUSA et al., 2016; VIGANÓ et al., 2021).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi a extração do óleo da amêndoa de pequi por SFE, a obtenção de compostos fenólicos por PLE e a caracterização dos extratos resultantes.

2 OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi a extração do óleo e de outros compostos apolares da amêndoa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) com o uso de CO₂ supercrítico, seguida da extração de compostos fenólicos da amêndoa com líquidos pressurizados com diferentes misturas de etanol e água.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinação da composição centesimal da amêndoa de pequi;
- Caracterização e quantificação de carotenoides, tocóis, perfil de ácidos graxos, classe de compostos glicerídicos e triacilgliceróis dos extratos obtidos por SFE;
- Definição das melhores condições (temperatura e pressão) de SFE para a obtenção do óleo da amêndoa de pequi e de seus compostos de interesse;
- Determinação das curvas de fusão e cristalização dos extratos obtidos por SFE;
- Identificação e quantificação dos compostos fenólicos dos extratos obtidos por PLE;
- Definição das melhores condições de temperatura e composição do solvente (etanol e água) para a PLE da amêndoa de pequi, visando à obtenção dos compostos fenólicos;
- Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos obtidos por PLE.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. PEQUI

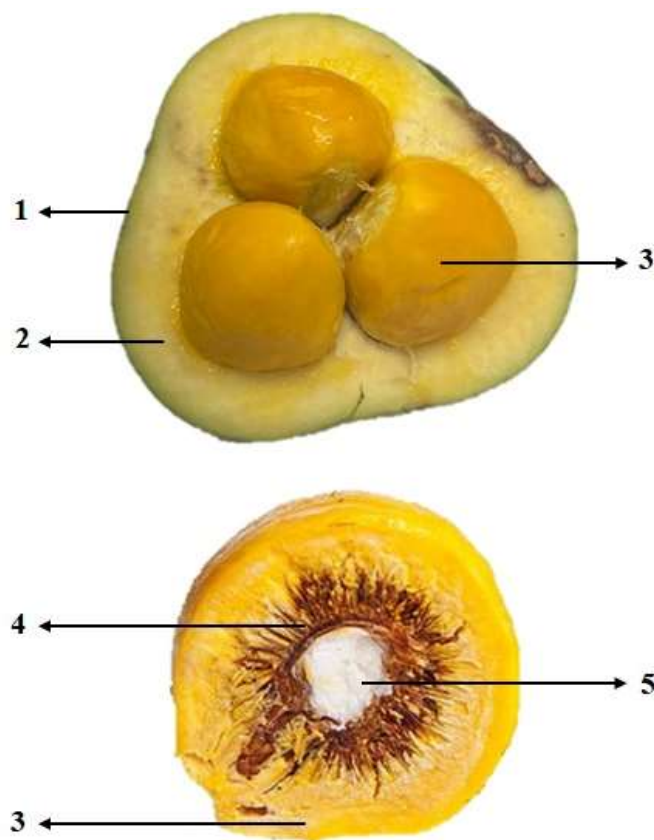
O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) (Figura 1) é uma árvore nativa do cerrado brasileiro com altura média de aproximadamente três metros, que pode chegar até quinze metros, que produz frutos no período de setembro a março (ALVES et al., 2014; SANTANA; NAVES, 2003; SOUSA et al., 2011). O fruto do pequizeiro, o pequi, é composto de epicarpo, mesocarpo e endocarpo. O endocarpo se divide em tegumento e amêndoa (Figura 2). O epicarpo apresenta cor esverdeada, o mesocarpo tem coloração amarela clara, enquanto o endocarpo varia em tons de amarelo e laranja (LEÃO et al., 2017). O endocarpo é formado por uma polpa comestível e o tegumento apresenta espinhos que envolvem a amêndoa (ALVES et al., 2014; DE ARAUJO, 1995).

Figura 1. Pequizeiro.



Fonte: De autoria própria.

Figura 2. Partes do pequi; 1. epicarpo; 2. mesocarpo; 3. endocarpo; 4. tegumento; 5. amêndoa.



Fonte: De autoria própria.

Em sua composição, o pequi possui teores de cálcio, ferro, zinco, fósforo, magnésio, potássio, ácidos graxos, compostos bioativos e carotenoides, como violaxantina, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, β -caroteno e neoxantina (ALVES et al., 2014; AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; LIMA et al., 2007). Dentre os compostos bioativos do pequi, destacam-se os compostos fenólicos, presentes principalmente na casca, que também se destaca em termos de capacidade antioxidante (ROESLER et al., 2007).

O pequi apresenta elevadas concentrações de óleo tanto na amêndoa quanto no endocarpo, cerca de 50% e 33%, respectivamente. Possui uma quantidade de fibra alimentar em torno de 10% e, aproximadamente 30% de proteína na amêndoa (ARAÚJO et al., 2018; SOUSA et al., 2011; LIMA et al., 2007). Pode variar sua constituição de acordo com a região de cultivo, sendo encontrado em vários estados brasileiros como Tocantins, Goiás, Minas Gerais, Piauí e Mato Grosso (JOHNER et al., 2018; LISBOA et al., 2020; MOURA et al., 2013).

A utilização do pequi não abrange todo o país por conta dos espinhos presentes no fruto, que dificultam o processamento, e sua alta perecibilidade (MACHADO et al., 2015). De acordo com o IBGE (2023), entre 2017 e 2021 houve um aumento da produção de pequi obtida por extrativismo vegetal (Tabela 1).

Tabela 1. Quantidade produzida de Pequi e valor da produção por extrativismo vegetal nos anos de 2017, 2018, 2019, 2020 e 2021.

Ano	Quantidade (t)	Valor da produção (Mil Reais - R\$)
2017	21.915	21.287
2018	22.078	18.762
2019	27.868	20.254
2020	63.520	45.096
2021	74.172	60.218

Fonte: Adaptado de IBGE, 2023.

O aumento na quantidade produzida demonstra a importância do cultivo do pequi para a economia local, que constitui fonte de renda para muitas famílias nas regiões onde é extraído (MACIEL et al., 2018). Vale ressaltar que o pequi também apresenta potencial medicinal devido à sua composição, o que faz com que este fruto seja uma matéria-prima promissora para processamento, além da sua comercialização na forma *in natura* (NASCIMENTO-SILVA; NAVES, 2019).

A comercialização do pequi se dá tanto em sua forma *in natura* quanto de seus derivados como conservas, licores, geleias, doces, sorvetes e óleo (MARTINS et al., 2021; MACIEL et al., 2018; VIEIRA et al., 2016). No processamento, mais de 80% do fruto, que correspondem ao epicarpo, mesocarpo, tegumento e amêndoa, caso esta não seja utilizada na extração de lipídios e farinhas, se tornam resíduos (LEÃO et al., 2017). Os óleos do endocarpo e da amêndoa são obtidos de forma artesanal, através do cozimento com água em altas

temperaturas e industrialmente, por prensagem e centrifugação (GONÇALVES, 2005; et MACIEL al., 2018).

Os óleos do endocarpo e da amêndoa do pequi contêm ácido oleico e palmítico, o que possibilita sua utilização na indústria de cosméticos, pela sua estabilidade oxidativa, e para a formulação de margarinas (GUEDES et al., 2017). Várias metodologias empregadas na extração de óleo foram investigadas para polpa e amêndoa de pequi, como Soxhlet, ultrassom, propano subcrítico e SFE com CO₂ (CORNELIO-SANTIAGO, 2017; CUNHA et al., 2020; JOHNER et al., 2018; PESSOA et al., 2015). A amêndoa do pequi apresenta um teor de lipídios maior que o endocarpo, o que a torna mais atrativa para a extração do óleo (MACHADO et al., 2015).

3.2. AMÊNDOA DE PEQUI

Além da grande quantidade de lipídios, a amêndoa do pequi (Figura 3) é rica em fibras, magnésio, cálcio, selênio, zinco, contém um alto teor de proteínas, cerca de 30%, e 0,4% de carboidratos (SOUSA et al., 2011). O óleo da amêndoa de pequi é composto principalmente de ácido palmítico, oleico, linoleico, esteárico e palmitoléico, que constituem cerca de 34%, 56%, 5%, 2% e 1% da composição total dos ácidos graxos, respectivamente (LIMA et al., 2007; LISBOA et al., 2020).

Figura 3. Amêndoa de pequi.



Fonte: De autoria própria.

A amêndoa de pequi é rica em compostos bioativos como fenólicos, carotenoides, tocoferóis e fitosteróis (TORRES et al., 2016). Ressalta-se, ainda, a presença de grande parte dos aminoácidos essenciais requeridos para castanhas exóticas (Tabela 2), de acordo com a Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al., 2007), com exceção da lisina, isoleucina e treonina, que se apresentam em baixas quantidades (SOUSA et al., 2011). A quantidade de aminoácidos essenciais são parâmetros nutricionais importantes para a inserção destes alimentos na alimentação humana.

Tabela 2. Perfil de aminoácidos (AAS) da amêndoa de pequi.

Aminoácidos (mg AAS/g de proteína)	Padrões requeridos para castanhas exóticas	Amêndoa de Pequi
<i>Essenciais</i>		
His	16,0	28,4
Ile	31,0	27,7
Leu	61,0	64,5
Lys	48,0	30,3
Met+Cys	24,0	62,0
Phe+Tyr	41,0	67,1
Thr	25,0	21,7
Trp	6,6	10,0
Val	40,0	40,4
Total	292,6	352,1
AAS (%)	100,0	63,0
<i>Dispensáveis</i>		
Asp	-	79,9
Glu	-	182,2
Ala	-	36,3
Arg	-	223,7
Gly	-	56,8
Pro	-	33,6
Ser	-	45,5
Total	-	658,0

Fonte: Adaptado de SOUSA et. al, 2011.

Na industrialização do pequi o endocarpo é removido para elaboração de conservas, enquanto a amêndoa, caso não seja descartada como resíduo por conta da quantidade de espinhos que a envolvem, costuma ser utilizada para a extração de óleos (ARAÚJO et al., 2018; LIMA et al., 2020; PAIVA et al., 2012). De acordo com o IBGE (2023), entre 2017 e 2021 houve uma queda da extração da amêndoa de pequi, mas também a valorização do produto (Tabela 3). Vale ressaltar que a amêndoa de pequi apresenta altos teores de lipídios, cerca de

50%, e seu óleo possui compostos fenólicos, carotenoides e baixos índices de acidez e peróxidos (LIMA et al., 2020; SOUSA et al., 2011; TORRES, 2016). Os níveis de acidez e peróxidos são parâmetros qualitativos, sendo que altos valores de peróxido e acidez contribuem para a oxidação dos ácidos graxos e triacilgliceróis, respectivamente, presentes no óleo (CASAL et al., 2010; TURA et al., 2023).

Tabela 3. Quantidade de amêndoa de pequi extraída e valor da produção e da amêndoa de pequi, obtidos por extrativismo vegetal nos anos de 2017, 2018, 2019, 2020 e 2021.

Ano	Quantidade (t)	Valor da produção (Mil Reais - R\$)	Valor da Amêndoa de Pequi (Mil Reais/t)
2017	832	3.098	3,72
2018	765	2.986	3,90
2019	741	2.923	3,94
2020	698	2.956	4,23
2021	817	3.528	4,32

Fonte: Adaptado de IBGE, 2023.

Os resíduos da extração de óleo apresentam elevadas quantidades de proteína. O aumento da procura para a produção de alimentos de origem vegetal faz com que a amêndoa do pequi seja um substituto promissor de fontes de proteína de origem animal (SÁ et al., 2021).

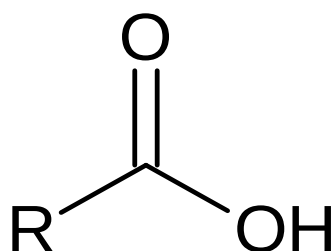
3.3.CONSTITUINTES BIOATIVOS

3.3.1. Ácidos Graxos e Triacilgliceróis

Os ácidos graxos são lipídios que desempenham papel biológico, como biomarcadores, estrutural, como constituintes das membranas celulares, e funcional, como fonte de energia para o corpo humano (NAGY; TIUCA, 2017). Mais de mil ácidos graxos podem ser encontrados de forma natural, em ceras, gorduras, óleos e outras fontes lipídicas (KENAR et al., 2017). Quimicamente, os ácidos graxos possuem um grupo carboxílico

(COOH), que costuma estar ligado a uma cadeia alifática apolar (CH) (Figura 4), com cadeia saturada ou insaturada. Geralmente os ácidos graxos são de cadeia longa, mas podem ter entre 5 e mais de 80 átomos de carbono (AGREGÁN et al., 2022; RIBEIRO; SERAVALLI, 2003; WAISUNDARA, 2018). A quantidade de carbonos na cadeia alifática influencia em sua classificação (Tabela 4) e nomenclatura (Tabela 5).

Figura 4. Estrutura química geral de um ácido graxo.



Fonte: Adaptado de KENAR et al., 2017.

Tabela 4. Classificação dos ácidos graxos de acordo com o número de átomos de carbono.

Classificação dos ácidos graxos	Número de átomos de carbono
Cadeia curta (SCFAs)	< 5
Cadeia média (MCFA)	6-12
Cadeia longa (LCFA)	13-21
Cadeia muito longa (VLCFA)	≥ 22

Fonte: WAISUNDARA, 2018.

Tabela 5. Diferentes nomenclaturas para ácidos graxos encontrados em alimentos.

Nome sistemático	Nome comum	Abreviação numérica
Hexanoico	Caproico	6:0
Octanoico	Caprílico	8:0
Decanoico	Cáprico	10:0
Dodecanoico	Láurico	12:0
Tetradecanoico	Mirístico	14:0
Hexadecanoico	Palmítico	16:0
Octadecanoico	Esteárico	18:0
<i>Ácidos graxos insaturados</i>		
cis-9-octadecenoico	Oleico	18:1 Δ 9
cis-9, cis-12-octadecadienoico	Linoleico	18:2 Δ 9
cis-9, cis-12, cis-15-octadecatrienoico	Linolênico	18:3 Δ 9
cis-5, cis-8, cis-11, cis-14-eicosatetraenoico	Araquidônico	20:4 Δ 5
cis-5, cis-8, cis-11, cis-14, cis-17-eicosapentaenoico	EPA	20:5 Δ 5
cis-4, cis-7, cis-10, cis-13, cis-16, cis-19-docosa-hexaenoico	DHA	22:6 Δ 4

Fonte: DAMODARAN et al., 2010.

Para a extração dos ácidos graxos com fins analíticos, costuma-se utilizar solventes orgânicos e/ou métodos gravimétricos. Dentre eles destacam-se o método Soxhlet, técnica tradicional empregada para a extração de lipídios, o método de Folch, Bligh e Dyer, por extração a frio, a extração assistida por micro-ondas (MAE - *Microwave-assisted extraction*) e a extração assistida por ultrassom (UAE - *Ultrasonic-assisted extraction*) e SFE (SMEDES; K ASKLAND, 1999; ZAMUZ et al., 2022). Em alguns casos, para aumentar a eficiência da análise, as amostras precisam ser submetidas a um pré-tratamento como: secagem, para a redução do teor de água, separação de lipídios ligados a proteínas e/ou carboidratos, além de serem armazenadas de forma adequada e condicionadas a temperaturas mais brandas para prevenir oxidação lipídica (HEWAVITHARANA et al., 2020; ZAMUZ et al., 2022).

A maioria dos ácidos graxos pode ser sintetizada pelo corpo humano, com exceção dos ácidos linoléico e α -linolênico que são ácidos graxos poliinsaturados essenciais (PUFAs - *Polyunsaturated Fatty Acid*) (NAGY; TIUCA, 2017). Quimicamente, os PUFAs são ácidos graxos insaturados com duas ou mais ligações duplas, e são considerados marcadores inflamatórios devido a sua capacidade anti-inflamatória e pró-inflamatória (SALSINHA et al., 2023). Além disso, o consumo de alimentos ricos em PUFAs promove a diminuição dos níveis de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL - *Low-Density Lipoprotein*) e aumento

do colesterol de lipoproteína de alta intensidade (HDL - *High-Density Lipoprotein*), o que contribui para a prevenção de doenças cardiovasculares (AGREGÁN et al., 2022). Alimentos como óleo de peixe e diferentes tipos de óleos vegetais são fontes de PUFA's. Logo, é importante que haja a ingestão destes ácidos devido aos seus benefícios à saúde (NAGY; TIUCA, 2017).

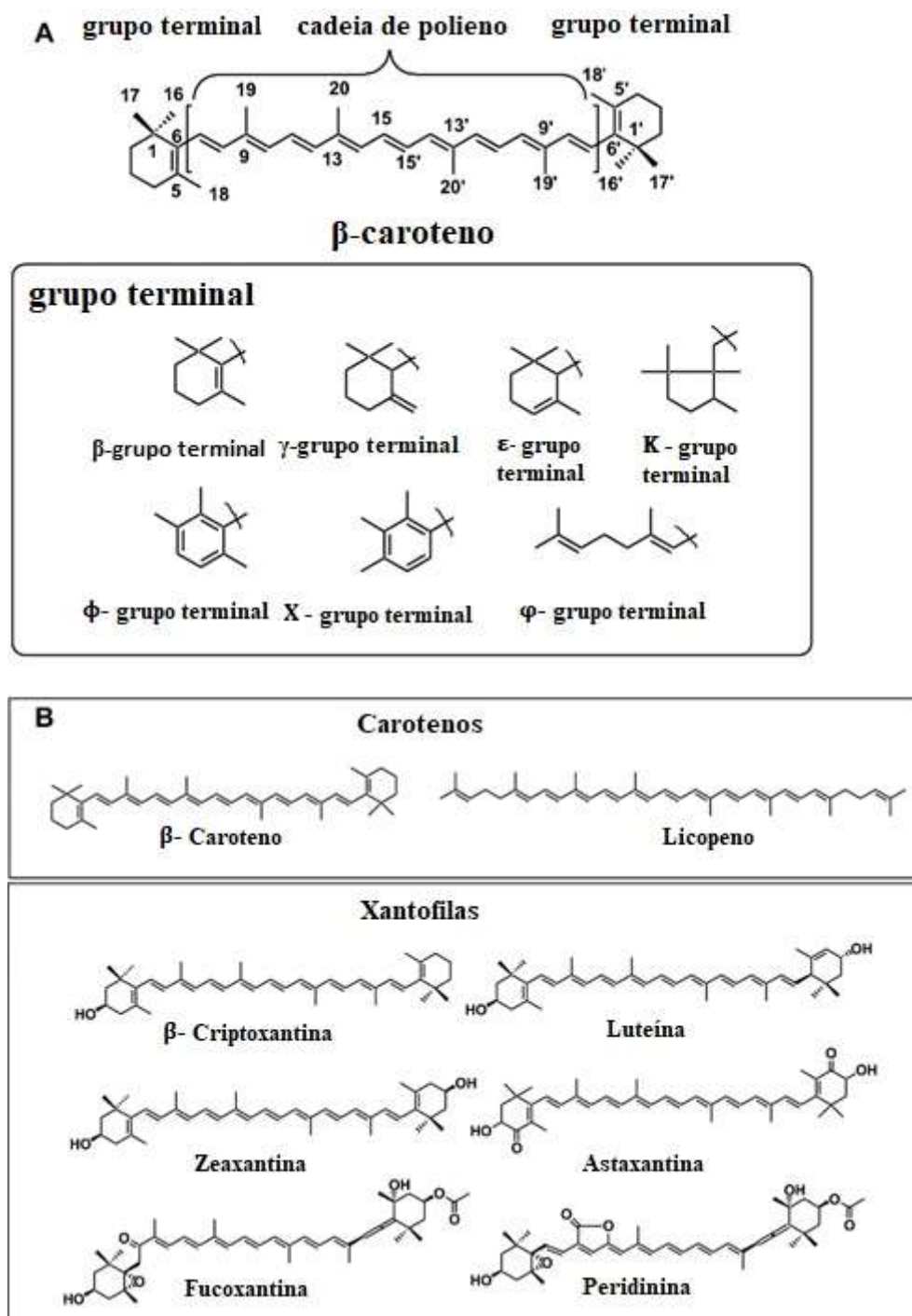
Os ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs - *Monounsaturated Fatty Acid*), presentes no azeite, também são marcadores inflamatórios, com maior eficiência que os PUFA's, como o ômega 9, no aumento do HDL, responsável pelo transporte do excesso de colesterol periférico do fígado. A introdução de MUFAs na dieta pode prevenir doenças cardiorrespiratórias, diabetes tipo 2, entre outras. (AGREGÁN et al., 2022)

Os triacilgliceróis (TAG - *Triacylglycerol*) são ésteres formados pela junção de três moléculas de ácido graxo com uma de glicerol (DAMODARAN et al., 2010). A ingestão dos TAG em excesso pode ser prejudicial à saúde, pois estes compostos podem provocar doença cardíaca coronária, dislipidemia e obesidade. Entretanto, o consumo de quantidades ideais de TAG promove efeitos antioxidantes e anticancerígenos (INDELICATO et al., 2017).

3.3.2. Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos sintetizados por organismos fotossintéticos e por algumas bactérias e fungos. Apresentam coloração amarelada, laranja, vermelha ou roxa e podem ser encontrados na natureza em flores, frutos, raízes e sementes (BRITTON et al., 2004; RIVERA-MADRID et al., 2020). Sua classificação é feita com base em seus grupos funcionais: os que contêm oxigênio, correspondentes às xantofilas, luteína, zeaxantina; e carotenos e, através da presença de uma cadeia hidrocarbonada parental como α -caroteno, β -caroteno e licopeno. A Figura 5 apresenta as estruturas básicas dos carotenoides e as típicas de carotenos e xantofilas (SAINI et al., 2015).

Figura 5. A. Estruturas básicas dos carotenoides; B. Estruturas típicas dos carotenos e xantofilas.



Fonte: MAOKA, 2020.

Estudos mostraram que o consumo de alimentos com carotenoides pode auxiliar na diminuição da degeneração macular, oriunda da idade e da catarata, prevenção de alguns tipos

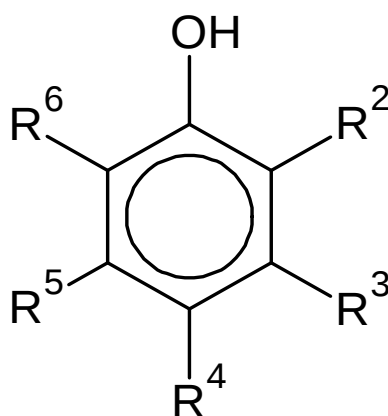
de câncer e doenças cardíacas coronárias, além de promover o aumento das funções cognitivas (JOHNSON, 2012; MILANI et al., 2017).

Devido às suas propriedades medicinais, alguns carotenoides, como o β -caroteno, luteína, zeaxantina, licopeno, astaxantina e a cantaxantina são utilizados industrialmente, para a produção de alimentos funcionais, suplementos, bebidas e fármacos (EGGERSDORFER; WYSS, 2018). Isso demonstra o potencial da busca por novas fontes destes componentes, tanto do ponto de vista alimentar como econômico.

3.3.3. Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias naturalmente presentes em matrizes vegetais, que influenciam diretamente nas características sensoriais, como cor e sabor, e físico-químicas dos alimentos (CHEN et al., 2022). Possuem estruturas variadas, como ácidos fenólicos, ácido cafeico, ácido gálico, estilbenos, flavonoides e vanilina e, sua fórmula química geral é constituída por um anel aromático e um grupo hidroxila (OH) (Figura 6) (CHEYNIER, 2012).

Figura 6. Estrutura química geral de um composto fenólico.

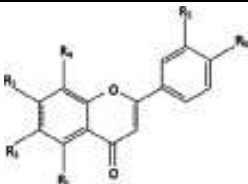
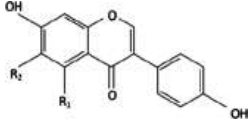
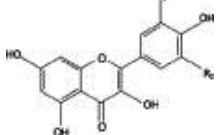
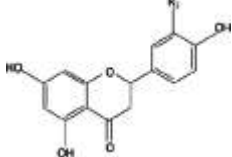
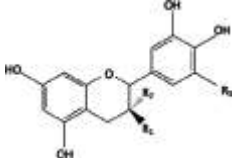
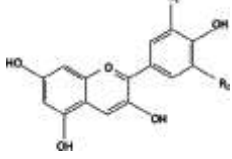
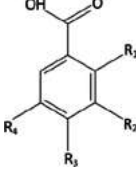
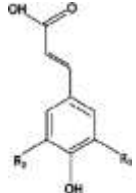


Fonte: RAPPOPORT, 2003.

Os compostos fenólicos estão presentes em plantas, atuando em mecanismos de defesa contra a luz ultravioleta, insetos, pragas e predadores. Por conta disso, a presença destes compostos pode proporcionar sabor adstringente e amargo nas frutas (BHUYAN; BASU, 2017; NARDINI, 2022). As moléculas de compostos fenólicos podem variar de acordo com a família, o que pode ser observado na Tabela 6, bem como os alimentos onde estes podem

ser encontrados.

Tabela 6. Principais compostos fenólicos, família, estrutura básica e fontes.

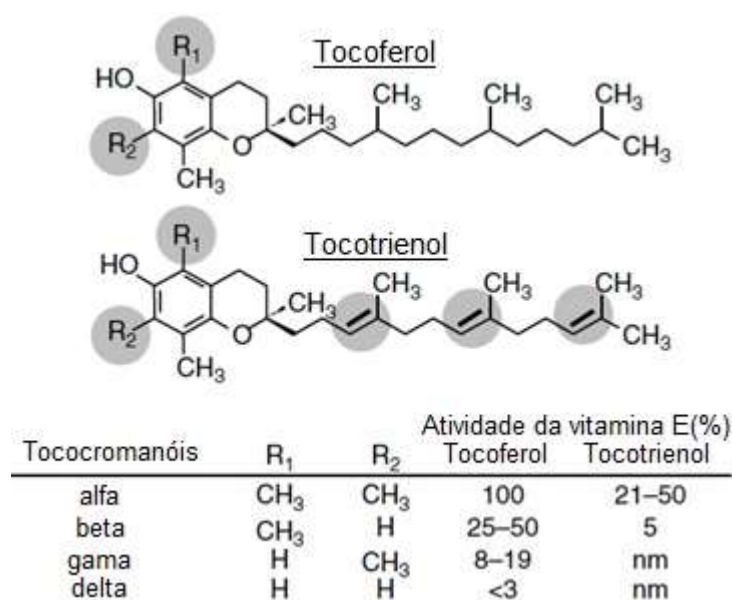
Família	Estrutura básica	Principais Compostos	Principais Fontes
Flavonas		Apigenina, luteolina, tangeretina, nobiletina	Aipo, salsa, tomilho, melão, melancia, cascas e sucos de frutas cítricas, pimenta doce e picante, couve chinesa e alcachofra
Isoflavonas		Daidzeína, genisteína, gliciteína	Soja, leguminosas, feijões e amendoins
Flavonóis		Kaempferol, quercetina, miricetina	Uvas, cerejas, alcachofras, couve chinesa, pimentão, alface, cebola, noz e ervas da família das apiáceas
Flavanonas		Naringenina, eriodictiol, hespertina	Frutas cítricas e sucos, orégano mexicano e hortelã-pimenta
Flavan-3-ols		Catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, catequina galato, epicatequina galato, galocatequina galato, epigalocatequina galato	Chá, chocolate, vinho tinto, nozes, uva, morango, amora, pêssago, nectarina, maçã, cereais, pêssago, nectarina, ameixa e maçã
Antocianidinas		Pelargonidina, cianeto, delphinidina, peonidina, petunidina, malvidina	Uva, cereja, ameixa, nectarina, pêssago, feijão preto, alface roxa e cebola roxa
Ácidos Hidroxibenzoicos		Ácido salicílico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido gálico e ácido siringico	Bagas, nozes, chá, chicória e algumas especiarias
Ácidos Hidroxicinâmicos		ácido p-cumárico, ácido cafeico e as formas metiladas ácidos ferúlico e sinápico	Ameixa, bagas, nectarina, pêssago, maçã, pera, brócolos, tomate, chicória, alface, azeitonas, cenoura e cereais

Fonte: OSORIO-TOBÓN, 2020.

3.3.4. Tocóis

Os tocóis, ou vitamina E, são lipídios divididos em oito grupos de compostos essenciais, no qual quatro são tocoferóis e quatro tocotrienóis, com nomenclaturas α , β , γ e δ (JAIN et al., 2022). Em sua estrutura química, os tocóis apresentam um anel de cromanol com uma cadeia lateral de fitol C16 (Figura 7), classificados de acordo com a cadeia lateral, saturada para os tocoferóis, ou com três ligações duplas nos carbonos 3, 7 e 11 para os tocotrienóis (LACHMAN et al., 2018).

Figura 7. Estrutura química geral dos tocóis.



Fonte: DANTAS et al., 2012.

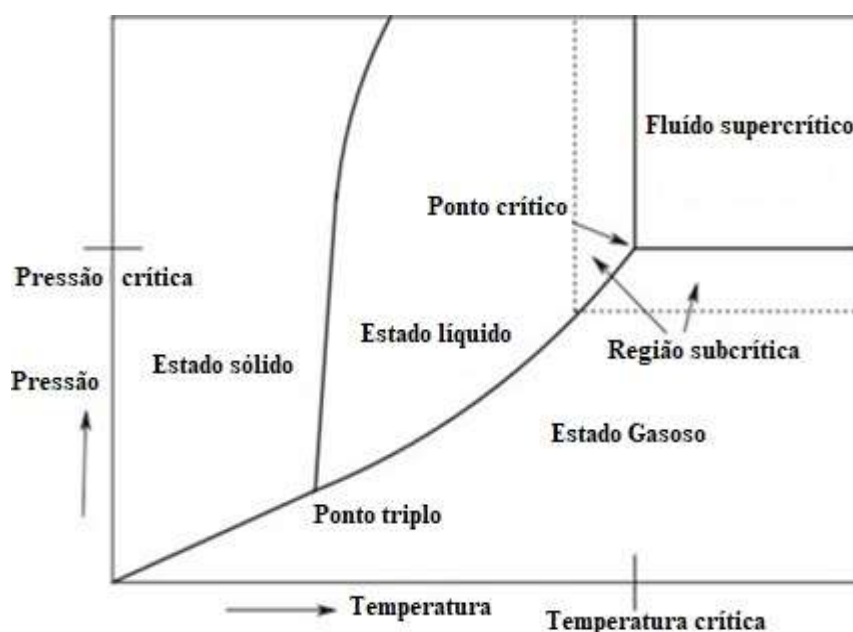
Os tocóis são encontrados principalmente em óleos de origem vegetal, como azeite de oliva, azeite de dendê, óleo de canola, óleo de soja, óleo de girassol, ou em sementes, frutas e amêndoas, como uva, jatobá, limão, mamão, semente de abóbora, óleo de amêndoas e outras nozes, entre outros (JAIN et al., 2022; SHAHIDI; DE CAMARGO, 2016; PANDYA et al., 2019).

Os tocoferóis e os tocotrienóis possuem alta capacidade antioxidante, além de serem um suplemento vitamínico, na forma de vitamina E, auxiliando no tratamento de doenças como a catarata, HIV-AIDS, doenças cardiovasculares e câncer (JAIN et al., 2022).

3.4.EXTRAÇÃO COM CO₂ SUPERCRÍTICO (SFE)

Fluídos supercríticos se caracterizam por estarem acima do ponto crítico (Figura 8), ou seja, em temperatura e pressão superiores à temperatura e pressão crítica, respectivamente, que são características de cada substância (TAYLOR, 1996). Podem ser utilizados para diferentes propósitos, dentre eles extração, geração de energia e reações químicas (XIE et al., 2021).

Figura 8. Diagrama de fases de uma substância pura.



Fonte: TAYLOR, 1996.

Ao ser comparada com a extração a quente ou a frio com o uso de n-hexano, que é uma técnica amplamente empregada industrialmente para a obtenção de óleos, a SFE é mais sustentável pois não utiliza solventes tóxicos e poluentes e pode extrair maiores quantidades de ácidos graxos insaturados (AHANGARI et al., 2021; GUARIENTI et al., 2012; MU et al., 2021). Como solventes na SFE, podem ser empregados a água, butano, etano, etanol, propano e CO₂ (AHANGARI et al., 2021; LEPOJEVIĆ et al., 2017).

A SFE com CO₂ tem sido uma alternativa com alto potencial para a extração de óleos, devido à aplicabilidade industrial e farmacêutica dos compostos extraíveis, além de poder prevenir a degradação de compostos bioativos (ESFANDIARI, 2015; KHAW et al., 2017; SAHENA et al., 2009; SOHNI et al., 2020). Como é um solvente apolar, o CO₂ solubiliza

lipídios e carotenoides. Entretanto, isso também é uma desvantagem, pois compostos polares, como os fenólicos, praticamente não são extraídos com CO₂ (MILLAO; UQUICHE, 2016). A extração de compostos fenólicos pode ser feita com outros solventes polares, como acetona, água, etanol e metanol. Além disso, também é possível aumentar a polaridade do solvente na extração de SFE com o uso de cossolventes polares (HERRERO et al., 2013; WANG; WELLER, 2006). Todavia, o CO₂ é uma boa opção de solvente por ser inodoro, incolor, atóxico, não inflamável, reciclável e pela sua abundância no ambiente (CORNELIO-SANTIAGO, 2017).

Ademais, a SFE com CO₂ tem como vantagens a prevenção da degradação térmica dos compostos termolábeis obtidos do extrato resultante, pois o CO₂ apresenta baixa temperatura crítica, cerca de 31 °C (DRON et al., 1997). O procedimento é rápido em relação a extração convencional com n-hexano, devido à baixa viscosidade e alta difusividade do solvente, que possibilita maior penetração na amostra (SAHENA et al., 2009; VIGANÓ et al., 2016a). Alguns parâmetros podem influenciar no rendimento e na extração de compostos na SFE, como a matriz vegetal, o diâmetro e a umidade da amostra, densidade do solvente, pressão e temperatura (GONÇALVES; ROMANO, 2020; SANCHÉZ-CAMARGO et al., 2014).

A matriz, sua safra e seu local de origem podem influenciar no rendimento global de SFE e nos compostos bioativos obtidos a partir de uma amostra (SANCHÉZ-CAMARGO et al., 2014). Além disso, de acordo com Gonçalves e Romano (2020), a umidade da amostra deve ser inferior a 12%, pois a presença de água pode induzir a hidrólise de compostos. O diâmetro da partícula também influencia, pois, quanto menor o diâmetro, maior é a superfície de contato do solvente com a matriz, que resulta em maiores taxas de extração e rendimentos.

A densidade do solvente varia com temperatura e pressão. Maiores pressões e menores temperaturas aumentam a densidade do solvente e, consequentemente, seu poder de solvatação, o que promove maiores rendimentos. Entretanto, o uso de pressões mais baixas e temperaturas mais altas apresenta o efeito contrário. Todavia, apesar do aumento da temperatura promover a diminuição da densidade do solvente, ele também pode aumentar a solubilidade dos compostos presentes na amostra por conta do aumento das suas pressões de vapor (SANCHÉZ-CAMARGO et al., 2014).

A SFE com CO₂ tem sido bastante utilizada, conforme apresentado na Tabela 7, para obtenção de óleos e outros compostos de sementes oleaginosas, como canola, chia,

girassol, soja (ISHAK et al., 2021; NODAR et. al, 2002; RAI et. al, 2016; SUN et al., 2021) e amêndoas como, avelã, baru e castanha-do-brasil (CHAÑI-PAUCAR et al., 2021; ÖZKAL et al., 2005; SANTOS et al., 2013).

Tabela 7. Condições ótimas de extração de óleo de sementes e amêndoas com o uso de CO₂ supercrítico.

Sementes/ Amêndoas	Condições ótimas (Temperatura, Pressão e Tempo de extração)	Resultados	Referências
Canola	70 °C, 18 MPa, 30 minutos	Óleo rico em tocoferóis	SUN et al., 2021
Chia	45 °C, 33,5 MPa, 300 minutos	Eficácia para a extração de ácidos graxos poli-insaturados e tocoferóis.	ISHAK et al., 2021
Girassol	80 °C, 40 MPa, 250 minutos	Diferença desprezível para SFE-CO ₂ e extração com hexano. Foram encontrados altos teores de ácido linoleico no óleo para ambas as extrações	RAI et. al, 2016
Soja	40 °C, 30 MPa, 300 minutos	Diferença desprezível para SFE-CO ₂ e extração com hexano, todavia a SFE-CO ₂ gerou um óleo com maior qualidade. Além disso, para SFE-CO ₂ , foram encontrados altos teores de ácidos graxos insaturados, em especial o ácido linoleico	NODAR et al., 2002
Avelã	60 °C, 60 MPa, 180 minutos	A transferência de massa entre a fase fluida e fase sólida foi elevada com o aumento da temperatura e da pressão	ÖZKAL et al., 2005
Baru	45 °C, 35 MPa, 185 minutos	Óleo com grandes quantidades de compostos bioativos e ácidos graxos insaturados	CHAÑI- PAUCAR et al., 2021
Castanha-do- Brasil	60 °C, 30 MPa, 120 minutos	Óleo de alta qualidade sem indicativos de oxidação e com altos teores de ácidos graxos insaturados	SANTOS et al., 2013

3.5.EXTRAÇÃO COM LÍQUIDOS PRESSURIZADOS (PLE)

Também conhecida como extração com fluído pressurizado, extração com solvente em alta pressão e extração acelerada com solvente, a PLE pode ser usada como procedimento complementar à SFE com aplicação na extração de componentes polares (BERMEJO et al., 2015; CHEN et al., 2020; LUQUE-GARCIA; LUQUE DE CASTRO, 2004; NIETO et al., 2010). Na PLE podem ser empregados diferentes tipos de solvente como etanol, isopropanol e água, que são denominados “solventes verdes”, por apresentarem baixa toxicidade e, assim, serem alternativas mais sustentáveis (CALVO-FLORES et al., 2018; CLARK et al., 2015; TRIPODO et al., 2018). Apesar da elevada temperatura e pressão, o ponto crítico do solvente não é atingido (CARABIAS-MARTÍNEZ et al., 2005; FITZPATRICK et al., 2000).

A temperatura e a pressão exercem influência na difusão, dessorção, solubilidade e solvatação dos materiais submetidos à PLE (VAZQUEZ-ROIG; PICÓ, 2015). O aumento da pressão contribui para a absorção do solvente na matriz e amplia a solubilidade dos compostos a serem extraídos (ANDREU; PICÓ, 2019; VIGANÓ et al., 2016a). Altas pressões são utilizadas para manter o solvente no estado líquido mesmo com a elevação da temperatura durante o procedimento. Além disso, este aumento de temperatura influencia positivamente na solubilidade dos compostos de interesse, ao solucionar os problemas das bolhas de ar dentro da matriz que atrapalham a absorção do solvente (MUSTAFA; TURNER, 2011).

A elevação da temperatura provoca a redução da viscosidade e, assim como a pressão, o aumento da solubilidade do solvente, e como consequência há o aumento da taxa de extração. Ademais, esta elevação provoca a intermissão das interações das forças de Van der Waals, ligações de hidrogênio e dipolo-dipolo, que também contribuem para a melhora no fluxo de extração (ANDREU; PICÓ, 2019; IBAÑEZ et al., 2012). A cor e o odor dos extratos resultantes da PLE também podem ser afetados pelo aumento da temperatura, devido à degradação de compostos da matriz e liberação de voláteis, respectivamente (PEREIRA et al., 2016).

Na PLE, misturas de etanol e água como solventes possibilitam menor tempo de extração em relação ao etanol puro, além de serem mais sustentáveis que álcoois puros ou misturas de propanol e água (MUSTAFA; TURNER, 2011; PITIPANAPONG et al., 2007). Ressalta-se que o aumento da temperatura diminui a polaridade do etanol, devido à quebra das ligações de hidrogênio e dipolo-dipolo. Todavia, esse efeito não é observado na água, que

consegue manter sua polaridade em altas temperaturas. Os solventes aplicados na PLE influenciam na composição do extrato resultante. Logo, para a otimização da técnica e aumento da obtenção de compostos antioxidantes, vários estudos sugerem misturas de água e etanol como solvente, sendo a melhor obtenção de compostos fenólicos obtida com o uso de 50 a 100% de etanol (DE MELLO et al., 2021; VIGANÓ et al., 2021; VIGANÓ et al., 2016a; ZULKAFI et al., 2014).

A PLE tem sido aplicada na extração de compostos bioativos de diferentes fontes, o que pode ser visualizado na Tabela 8.

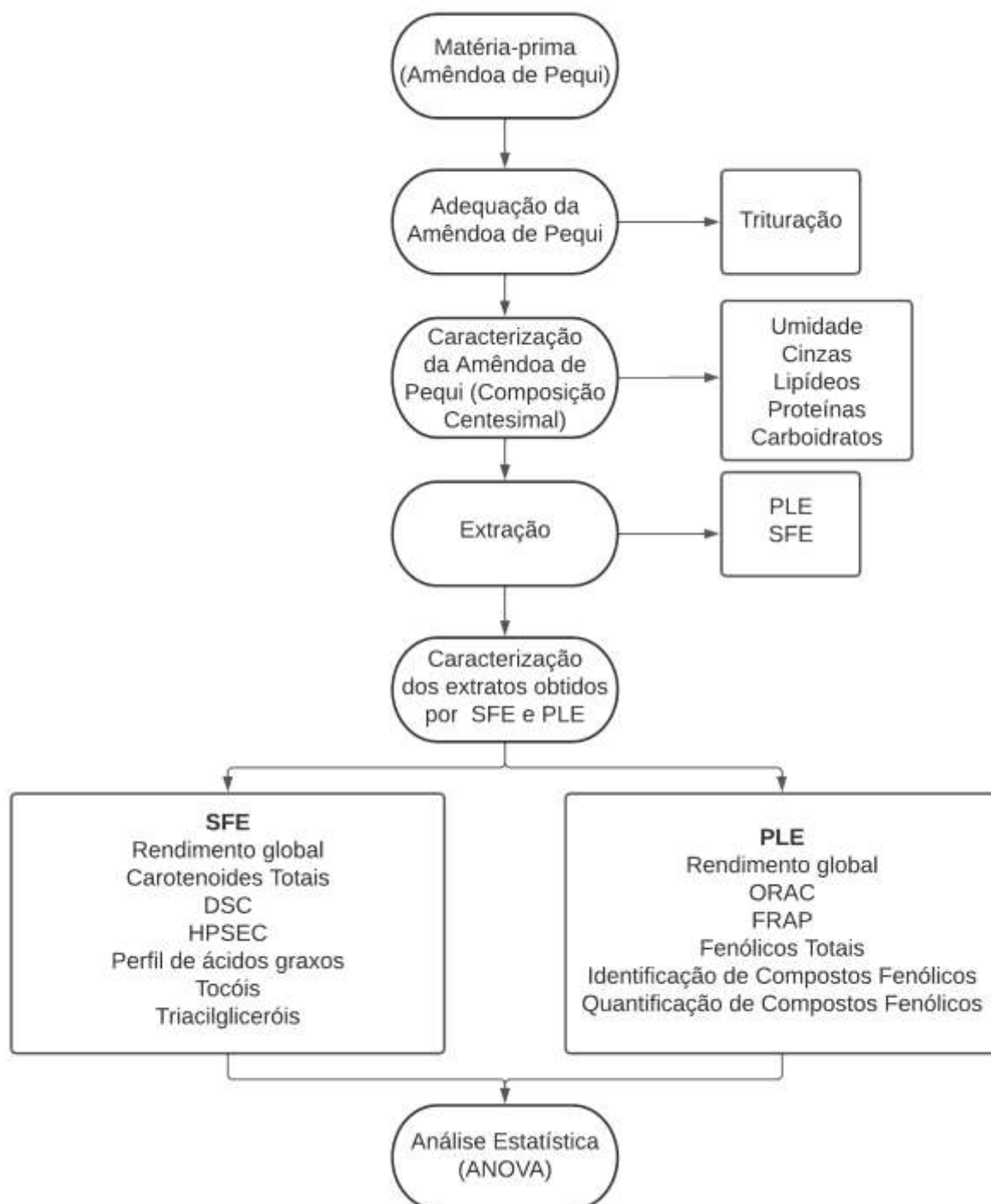
Tabela 8. Compostos extraídos em diferentes amostras e condições com o uso da PLE.

Sementes/ Amêndoas	Condições (Temperatura, Pressão, Tempo de extração e Solventes empregados)	Compostos extraídos	Referências
Guaraná	40, 50, 60 °C, 10 MPa, 60 minutos Água e etanol	Compostos fenólicos e alcaloides	SANTANA et al., 2019
Uva	100 °C, 10 MPa, 30 minutos Hexano	Vitamina E	FREITAS et al., 2008
Chia	60, 90, 120, 150, 200 °C, 10 minutos Acetato de etila e hexano	Ácidos Graxos	CASTEJÓN et al., 2017
Amêndoa	50 °C, 11 MPa, 5 minutos Metanol	β -sitosterol	DELGADO- ZAMARREÑO et al., 2009
Avelã	60 °C, 10 MPa, 5 minutos Acetona, acetonitrila, acetato de etila e metanol	Aflatoxinas	CAMPONE et al., 2009
Pinhão	50 °C, 10 MPa, 18 minutos Água	Inositóis	RUIZ- ACEITUNO et al., 2014

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A Figura 9 apresenta o diagrama com a metodologia que foi desenvolvida neste trabalho. A maioria das atividades foi realizada no Laboratório de Alta Pressão em Engenharia de Alimentos (LAPEA/DETA-FEA/UNICAMP). As análises cromatográficas de compostos fenólicos foram realizadas no Laboratório Multidisciplinar em Alimentos e Saúde (LabMAS/FCA/UNICAMP), as análises de tocóis foram feitas no Laboratório de Extração, Termodinâmica Aplicada e Equilíbrio (EXTRAIE/DETA-FEA/UNICAMP) e as análises de perfil de ácidos graxos, composição de glicerídeos por cromatografia de exclusão de tamanho de alto desempenho (HPSEC - *High Pressure Size Exclusion Chromatography*), análise térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*) e triacilgliceróis foram realizadas no Laboratório de Óleos e Gorduras (LOG/DETA-FEA/UNICAMP).

Figura 9. Diagrama das atividades realizadas nesta dissertação.

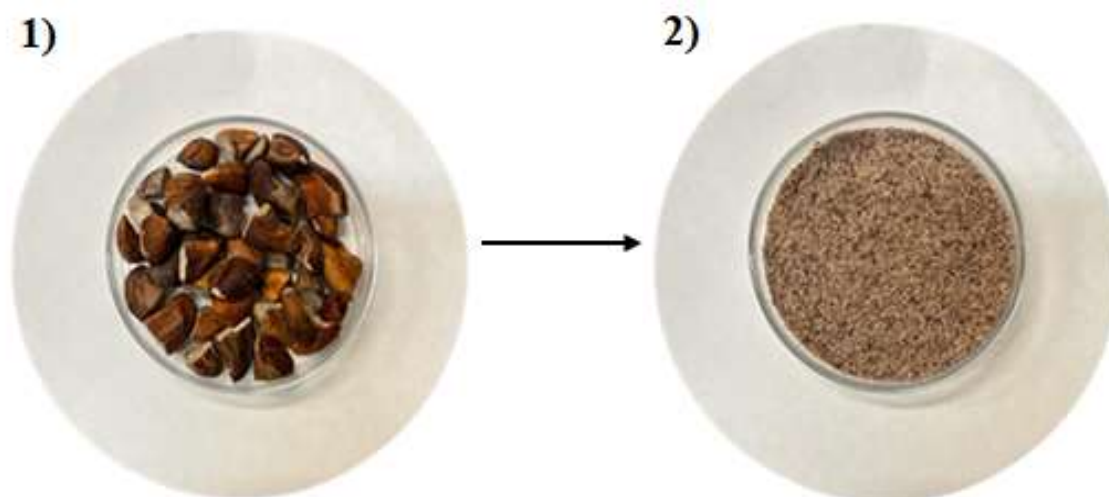


Fonte: De autoria própria.

4.1.MATÉRIA- PRIMA

As amêndoas secas de pequi (Figura 10) (nº de cadastro Sisgen: A052331) foram obtidas em comércio local, oriundas de Brasília de Minas, Minas Gerais, Brasil (16° 12' 30" sul latitude e 44° 25' 35" oeste longitude), da safra de janeiro/2022, e transportadas até Campinas, São Paulo, Brasil. Em seguida, foram trituradas em liquidificador (Oster, modelo 6844-017, México) (Figura 10), peneiradas em peneiras de 0,1 mm de diâmetro, no qual a fração de amostra que ficou retida na peneira foi descartada. As amêndoas trituradas e peneiradas foram colocadas em frascos herméticos e armazenadas em freezer (Metalfrio DA420, São Paulo) a - 18 °C até passarem pelas extrações e serem caracterizadas.

Figura 10. Amostras da amêndoa de pequi; 1. Amêndoa inteira; 2. Amêndoa triturada.



Fonte: De autoria própria.

4.2.CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA- PRIMA

4.2.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal da amêndoa de pequi foi determinada em triplicatas.

4.2.1.1. Teor de umidade

A determinação do teor de umidade das amêndoas de pequi foi feita com o uso da metodologia da AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (1997), método 931.04, com a aplicação do método gravimétrico em estufa de circulação forçada (Fanem, modelo 320

SE, São Paulo, Brasil), no qual cerca de 5 g de amostra, colocadas em placas de Petri, foram aquecidas a 105 °C até atingirem massa constante. Em seguida, as amostras foram dispostas em dessecador até alcançarem temperatura ambiente e posteriormente pesadas. O cálculo do teor de umidade foi determinado pela porcentagem entre a massa de água removida e a massa do material inicial.

4.2.1.2. Teor de resíduos minerais (cinzas)

A determinação do teor de resíduos minerais (cinzas) foi feita com o uso da metodologia da AACC 08-01 (1990), pela qual ocorreu a incineração do material orgânico na mufla (Quimis, 318.D21, São Paulo, Brasil). Cerca de 5 g de amostra foram sobrepostos em cadinhos de porcelana e colocados na mufla a 500 °C por um período de 72 horas. Em seguida, as amostras foram dispostas no dessecador até alcançarem temperatura ambiente e posteriormente pesadas. O teor de cinzas foi calculado como a porcentagem entre a massa final de cinzas e a massa do material inicial.

4.2.1.3. Teor de lipídios

A determinação do teor de lipídios foi feita com o uso da metodologia de Gurr (1984), por diferença de massa, na qual 5 g de amostra foram colocadas em cartuchos para extração com Soxhlet. Como solvente, foram utilizados 200 mL de hexano (laboratório Synth, São Paulo, Brasil), colocados em balões. A técnica teve duração de 6 horas. Em seguida, a remoção do solvente foi feita em rotaevaporador (Marconi, modelo MA 120/E, São Paulo, Brasil) e o balão foi levado para estufa, com temperatura de 105 °C por 30 minutos. Depois de atingir a temperatura ambiente no dessecador, o balão foi pesado para quantificação da massa. Os resultados foram expressos em porcentagem.

4.2.1.4. Teor de proteínas

A determinação do teor de proteínas foi feita com o uso da metodologia da AOAC (1997), método 970.22, com a aplicação do método semimicro-Kjeldahl, no qual, cerca de 0,2 g de amostra e uma mistura catalisadora de sulfato de cobre e sulfato de potássio (Synth, São Paulo, Brasil) foram inseridas em tubos de vidro para digestão com ácido sulfúrico (Synth, São Paulo, Brasil). Na técnica, o hidrogênio e o carbono passaram por processo de oxidação, que resultou em CO₂ e água. O nitrogênio presente na proteína foi convertido em sulfato de amônio.

A amostra digerida foi destilada a partir da adição de hidróxido de sódio 40% em meio básico, para possibilitar a liberação da amônia, que foi coletada como solução de ácido bórico (Synth, São Paulo, Brasil), onde se formou o borato de amônio. O borato de amônio foi quantificado por meio da titulação com ácido clorídrico (0,02 N). O fator de conversão de nitrogênio para proteína aplicado foi de 6,25. Os resultados foram expressos em porcentagem.

4.2.1.5. Teor de carboidratos totais

Para a determinação do teor de carboidratos totais, foi calculada a diferença dos percentuais dos teores totais de água, cinzas, lipídios e proteínas.

4.3.EXTRAÇÃO COM FLUÍDO SUPERCRÍTICO (SFE)

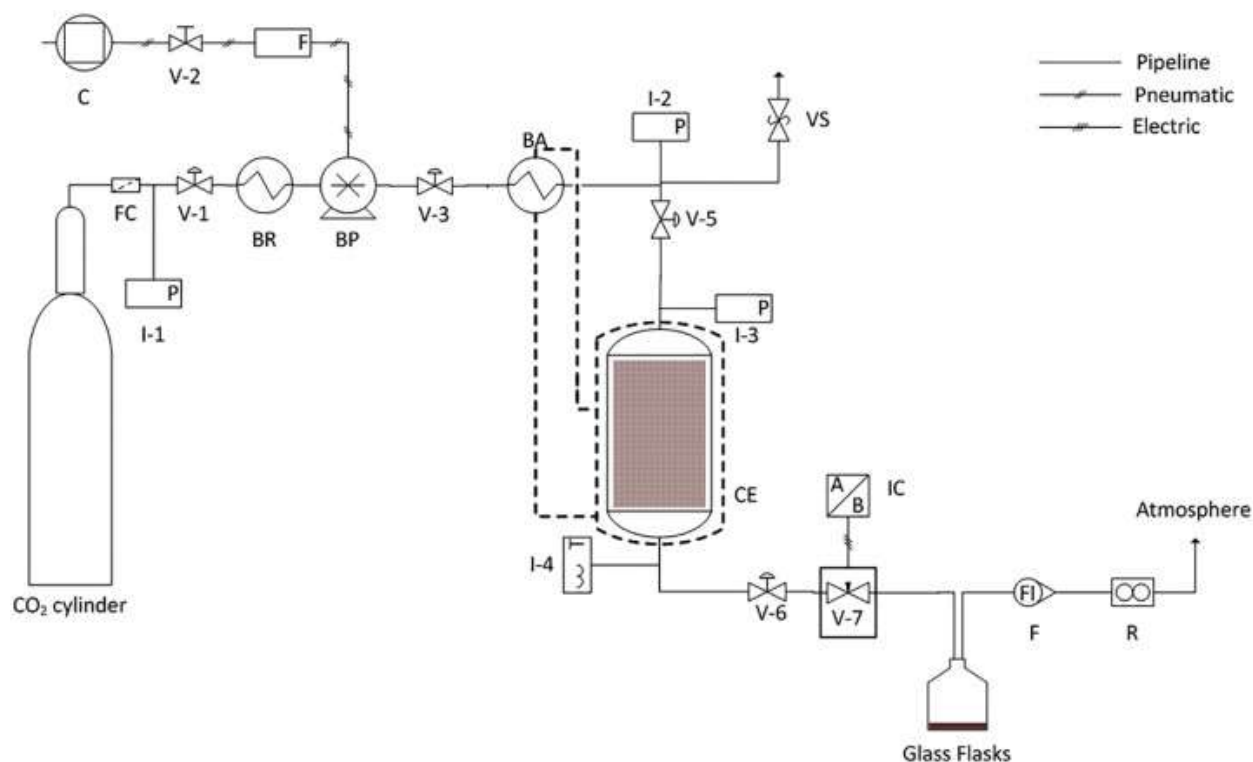
A SFE do óleo da amêndoa de pequi foi realizada com a metodologia descrita por Viganó et al. (2016b) com modificações. Dez gramas de amostra foram colocados em uma coluna de extração de 10,9 cm³ e CO₂ (pureza de 99%) foi usado como solvente. A célula de extração utilizada foi de 50 mL, onde foi colocado filtro e algodão, para impedir a passagem de amostra na unidade, a amostra e um preenchedor de 50 mm de altura. A unidade de SFE (imagem na Figura 11) está esquematizada no fluxograma da Figura 12. As extrações foram realizadas seguindo um planejamento fatorial com dois fatores, pressão e temperatura, e três níveis em duplicata, totalizando 18 experimentos. As temperaturas avaliadas foram 40, 50 e 60 °C e as pressões foram 15, 25 e 35 MPa. A vazão de CO₂ foi mantida constante em 1,8×10⁻⁴ kg/s, os tempos de extração estático e dinâmico foram de 20 e, aproximadamente 120 minutos, respectivamente, e a razão mássica entre solvente e amêndoa triturada e peneirada (S/F) foi de 100 kg de CO₂/kg de amêndoa de pequi, determinada previamente por meio de cinética de extração. Depois da extração foi feita a descompressão da coluna, a torta residual desengordurada foi armazenada a -18 °C para ser posteriormente submetida ao processo de PLE e os extratos foram colocados em frascos herméticos, protegidos da luz e acondicionados a -18 °C para análises posteriores.

Figura 11. Unidade de SFE do LAPEA.



Fonte: De autoria própria.

Figura 12. Diagrama da unidade de extração por SFE. V-1 a V-6 = Válvulas de bloqueio; V-7 = Válvula micrométrica; VS = Válvula de segurança; C = Compressor; F = Filtro de ar; FC = Filtro de CO₂; BR = Banho de refrigeração; PA = Bomba de CO₂; BA = Banho de aquecimento; CE = Célula de extração com camisa de aquecimento elétrico; I-1, I-2 e I-3 = Indicadores de pressão; I-4 = Indicadores de temperatura; IC: Controlador de temperatura (válvula micrométrica); F = Medidor de vazão; R = Totalizador de fluxo.



Fonte: VIGANÓ et al., 2020.

4.4. EXTRAÇÃO COM LÍQUIDOS PRESSURIZADOS (PLE)

A PLE foi realizada com a aplicação da metodologia descrita por Viganó et al. (2016b), modificada, com o intuito de obter os compostos bioativos polares da amêndoa de pequi desengordurada. A PLE foi realizada a partir da amostra previamente submetida à SFE (Figura 13), que foi realizada na melhor condição encontrada entre as informadas na Seção 4.3. Esta condição foi de 35 MPa e 40 °C, e o detalhamento deste resultado se encontra na Seção 5.2.1. As extrações foram feitas na unidade de PLE (imagem na Figura 14), cujo fluxograma está esquematizado na Figura 15. As extrações foram realizadas seguindo um planejamento fatorial com dois fatores, temperatura e porcentagem de etanol em água no solvente, e três níveis em duplicata, totalizando 18 experimentos. As temperaturas avaliadas foram de 60, 85 e

110 °C e os percentuais de etanol (pureza de 99,5%) em água no solvente foram de 50, 75 e 100% (m/m), com vazão mássica constante de 5 g/min, que resultou em vazões volumétricas do solvente de 5,5, 5,89 e 6,37 mL/min, respectivamente. A pressão foi mantida constante a $10,0 \pm 0,5$ MPa. O solvente foi alimentado por uma bomba HPLC (Jasco, modelo PU2080, Japão). Posteriormente, os extratos coletados após a análise foram armazenados em frascos herméticos, protegidos da luz e acondicionados a temperatura de -18 °C para análises posteriores.

Figura 13. Amêndoa de pequi desengordurada por SFE.



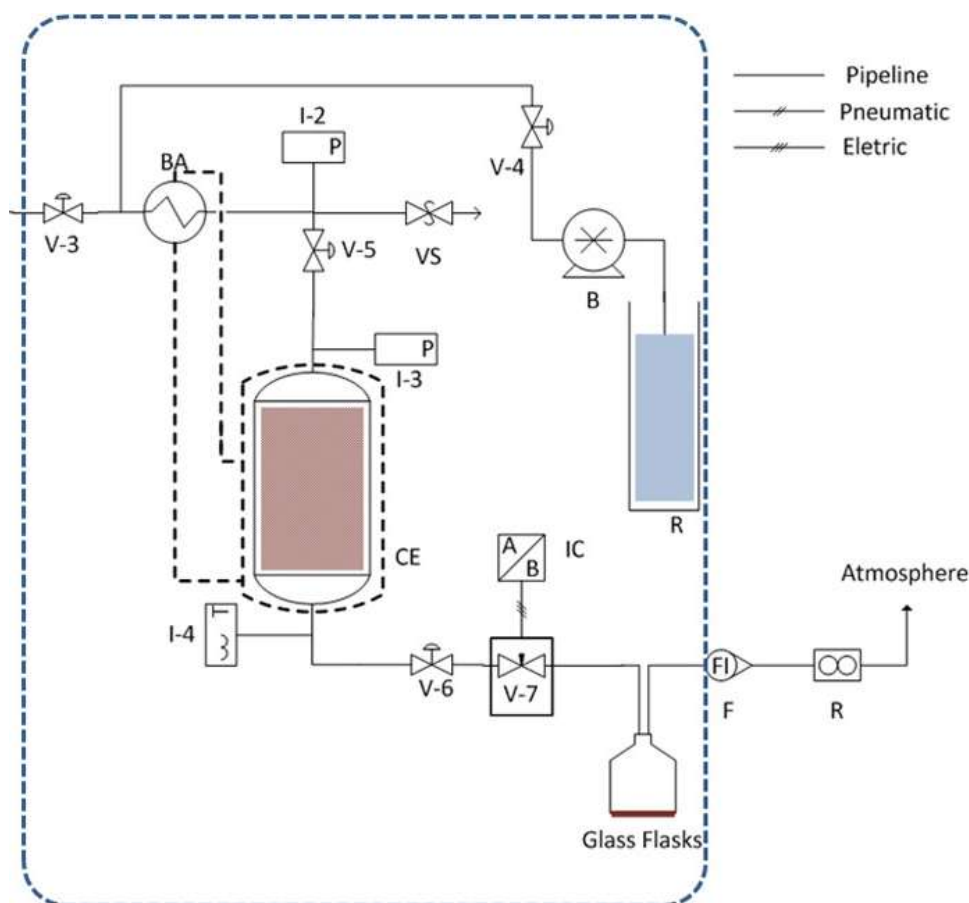
Fonte: De autoria própria.

Figura 14. Unidade de PLE do LAPEA.



Fonte: De autoria própria.

Figura 15. Diagrama da unidade de extração de PLE. V-3 a V-6 = Válvulas de bloqueio; V-7 = Válvula micrométrica; VS = Válvula de segurança; BA = Banho de aquecimento; CE = Célula de extração com camisa de aquecimento elétrico; R = Reservatório do solvente; B = Bomba de HPLC; I-1, I-2 e I-3 = Indicadores de pressão; I-4 = Indicadores de temperatura; IC: Controlador de temperatura (válvula micrométrica); F = Medidor de vazão; F = Totalizador de fluxo.



Fonte: VIGANÓ et al., 2016b.

4.5. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRADOS OBTIDOS POR SFE

O rendimento global (X_0), as concentrações de carotenoides totais, tocóis, triacilgliceróis, as curvas de fusão e cristalização, as classes de compostos glicéricos e o perfil de ácidos graxos foram determinados para os extratos resultantes da SFE.

4.5.1. Rendimento global (X_0)

O rendimento global de extração (X_0) foi determinado por meio da Equação 1:

$$X_0(\%) = \frac{M_e}{F} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde M_e corresponde à massa do extrato e F à massa da amostra submetida à extração. Os valores de X_0 foram expressos em porcentagem (%).

4.5.2. Carotenoides totais

O teor de carotenoides totais dos extratos obtidos por SFE foi determinado pela metodologia de Rodrigues-Amaya (2001). Os extratos da SFE, diluídos em hexano (laboratório Synth, São Paulo, Brasil), foram colocados em leitor de microplacas (FLUOstar Omega, BMG LABTECH GmbH, Ortenberg, Alemanha) e sua absorbância foi lida a 450 nm. As análises foram feitas em triplicatas e o teor de carotenoides foi calculado como $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno}/100 \text{ g de amêndoa}$.

4.5.3. Composição de tocóis

As concentrações de tocóis dos extratos obtidos por SFE foi determinada pela metodologia de Ansolin et al. (2017), com o uso de cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC-MS - *Ultra-high performance liquid chromatography*) acoplada a espectrometria de massas. O cromatógrafo Waters Acquity UPLC®, com sistema Waters Acquity SQD/UPLC (Mildford, MA, EUA) foi empregado na realização das análises e os solventes utilizados foram metanol, isopropanol e hidróxido de amônio (28-30%) de grau HPLC (Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Inicialmente, as amostras foram diluídas em isopropanol grau HPLC (8000 μg de amostra/mL de isopropanol) e filtradas em seringas hidrofóbicas de politetrafluoroetileno. Para a análise, utilizou-se uma coluna Acquity UPLC BEH C18 (1,7 μm , 2,1 $\times$ 100 mm), fase móvel A composta por metanol: água: hidróxido de amônio (99:1:0,1 v/v/v) (Merck, KGaA, Alemanha), isopropanol como fase móvel B (Merck, KGaA, Alemanha), volume de injeção de 5 μL e temperatura da coluna de 25 °C. Primeiramente, a vazão do equipamento foi de 0,2 mL/min, durante 6 min, seguido de 0,15 mL/min por 6-10 min e por fim, 0,2 mL/min até o fim da corrida. Foi utilizado um espectrômetro de massa com eletrospray no modo negativo para detectar tocoferóis e

tocotrienóis. As análises foram feitas em triplicatas. A composição de tocóis foi calculada como $\mu\text{g/g}$ de extrato.

4.5.4. Perfil de glicerídeos

A composição de glicerídeos dos extratos obtidos por SFE foi analisada pelo método descrito por Dobarganes, Velasco e Dieffenbacher (2000) pela técnica de cromatografia de alta performance por exclusão de tamanho (HPSEC). Foi utilizado o detector de índice de refração Waters 2414 e o cromatógrafo líquido Perkin Elmer LC250 com detector de índice de refração Sicon Analytic. Duas colunas Hewlett Packard (300 mm x 7,5 mm, 5 mm) conectadas em série, foram empregadas, com poros de 100 e 500 Å de diâmetro. Injetou-se 20 μL de amostra com o tetrahidrofurano grau HPLC como fase móvel e vazão de 1mL/min. As análises foram feitas em duplicata e calculadas em porcentagem em relação a área do pico normalizada.

4.5.5. Perfil de triacilgliceróis

A composição de triacilgliceróis dos extratos obtidos por SFE foi determinada pela metodologia da AOCS (2009), método Ce 5-86, com o uso de cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As análises cromatográficas foram feitas com o uso do cromatógrafo Waters Alliance modelo 2690 (Mildfor, USA). Foi utilizada a coluna Waters C18 (5 μm , 4,6 X 250 mm), onde foram injetados 5 μL de amostra com solvente isocrático (60 % de acetona e 40% de acetonitrila v/v) com vazão de 1mL/min. As análises foram feitas em duplicata e calculadas em porcentagem em relação a área do pico normalizada.

4.5.6. Perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos dos extratos obtidos por SFE foi determinado pela metodologia da AOCS (2009), método Ce 1f-96, com o uso de cromatografia gasosa. Os extratos foram preparados por metilação de acordo com o método de Hartman e Lago (1973). As análises cromatográficas foram feitas através de um sistema de cromatografia gasosa capilar CGC (Agilent, 6850 Series GC System, Santa Clara, CA, USA). As condições experimentais aplicadas foram: coluna capilar DB-23 (Agilent, 50% cianopropilmetilpolissiloxano), dimensão (0,25 μm x 60 m x 0,25 mm); hélio como gás portador a uma vazão de 0,001 L/min; velocidade linear de 24 cm/s; temperatura de injeção de 250 °C; temperatura da coluna de 110 °C durante 5 min, taxa de 5 °C/min com temperaturas de 110-250 °C, 215 °C por 24 min; temperatura de

detecção de 280 °C; volume de injeção de 1 µL. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados através da comparação dos resultados com os padrões. As análises foram feitas em duplicata e calculadas em porcentagem em relação a área do pico normalizada.

4.5.7. Análise Térmica

A análise térmica dos extratos obtidos por SFE, com o uso de calorimetria exploratória diferencial (DSC), foi realizada pelo método da AOCS Cj 1-94. Entre 8 e 12 mg de amostra da extração por SFE, na maior e menor densidade CO₂, foram pesados e condicionados em placas de alumínio, selados e alocados no equipamento Q200 DSC (TA Instruments, New Castle, USA) com taxa de resfriamento de -5°C/min e variação de 80 a -70°C. Após a leitura do equipamento, os resultados foram obtidos pela integralização das curvas de fusão e cristalização, com o uso do programa TA Universal Analysis 2000, para a análise da temperatura inicial, final, do pico, entalpia e altura/intensidade dos picos de fusão e cristalização. As análises foram feitas em duplicatas.

4.6. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRADOS OBTIDOS POR PLE

O rendimento global (X₀), a capacidade antioxidante, a concentração de fenólicos totais e a identificação e quantificação de compostos fenólicos foram determinados nos extratos resultantes da PLE.

4.6.1. Rendimento global (X₀)

Inicialmente uma alíquota de 5 mL de extrato foi seca estufa de circulação forçada (Fanem, modelo 320 SE, São Paulo, Brasil) a 65 °C até atingir massa constante (m_{ext}). Posteriormente, o rendimento foi calculado de acordo com a Equação 2, usando o volume total do extrato (V_{ext}) e a massa da amêndoa de pequi seca (F).

$$X_0(\%) = \frac{m_{\text{ext}} \times V_{\text{ext}}(\text{mL})}{F \times 5\text{mL}} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

4.6.2. Fenólicos totais

A determinação de fenólicos totais nos extratos obtidos por PLE foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999), com modificações. A princípio, foram feitas as diluições de ácido gálico com concentrações de 0,02 a 0,2 mg/mL como padrão

de calibração. Posteriormente, os extratos foram diluídos em água destilada para que a absorbância ficasse entre 0,1 e 0,9 μL de branco (água destilada), e pipetados em uma microplaca transparente de 96 poços. Em seguida foram adicionados 140 μL de água destilada e 20 μL de reagente Folin-Ciocalteu (Dinâmica, São Paulo, Brasil) em cada poço. Depois de um período de 3 min, foram adicionados 20 μL de solução saturada de carbonato de sódio (Synth, São Paulo, Brasil). A placa ficou em repouso no escuro por duas horas em temperatura ambiente. Logo após, a absorbância foi lida no comprimento de onda de 760 nm em um leitor de microplacas FLUOstar Optima (BMG LABTECH, Ortenberg, Alemanha). O teor de fenólicos totais foi calculado como ácido gálico equivalente (GAE)/g de amêndoa seca e desengordurada.

4.6.3. Identificação e quantificação de compostos fenólicos

A identificação e quantificação dos compostos fenólicos dos extratos obtidos por PLE foi feita pelo método descrito por Da Silva et al. (2023), com modificações. Os extratos de amêndoa de pequi obtidos por PLE nas três melhores condições de temperatura e pressão, em termos da concentração de compostos fenólicos (50% EtOH e 110 °C, 75% EtOH e 85 °C e 75% EtOH e 110 °C) foram centrifugados a 14.000 rpm por 10 min e filtrado em um filtro de nylon de 0,22 μm . O cromatograma e os espectros dos extratos foram determinados por UPLC com uma matriz de fotodiodos detector (PDA) (Waters Co., Milford, MA, EUA). Os compostos foram separados em um Coluna Kinetex C18 (1,3 μm X 50 mm X 2,1 mm, Phenomenex, Torrance, EUA) e mantidos a temperatura de 47 °C usando uma taxa de fluxo de 0,5 mL/min. A fase móvel consistia em 0,1% de água (v/v) em ácido acético (solvente A) e 0,1% de acetonitrila (v/v) em ácido acético (solvente B). Os compostos foram separados usando o seguinte gradiente: 0 min (97% UMA); 2 min (85% A); 5 min (75% A) durante 8 min. Os cromatogramas foram detectados na região de 210–498 nm usando o software Empower 2 (Waters Alliance, Milford, MA, EUA). Os compostos dos extratos foram identificados comparando seus tempos de retenção e Espectros UV-vis para padrões de referência de epicatequina, catequina, rutina, ácido gálico, ácido cafeico e ácido elágico. Os resultados foram expressos em mg/g de amêndoa de pequi seca e desengordurada.

4.6.4. Capacidade antioxidante

As capacidades antioxidantes foram determinadas pelos métodos descritos na sequência, para os extratos obtidos por PLE nas três condições que resultaram nos maiores teores de fenólicos totais.

4.6.4.1. FRAP

A capacidade redutora de ferro foi determinada pelo método FRAP, de acordo com a metodologia de Benzie e Strain (1996) com modificações. A solução FRAP foi feita com um tampão de acetato 0,3 M com pH 3; 2,4,6-tris(2-piridil) -s- triazina (TPTZ) 10 mM em solução de HCl 40 mM e FeCl₃ 20 mM. As análises foram feitas triplicatas com concentrações de 90 µL: 270 µL: 2,7 mL extrato diluído, água destilada e solução FRAP, respectivamente, mantidos em ambiente escuro com temperatura de 37 °C por 30 minutos. Posteriormente, a absorbância foi medida a 595 nm em leitor de microplacas FLUOstar Optima (BMG LABTECH, Ortenberg, Alemanha). A curva padrão de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-etrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) foi construída com concentrações de 0,01 a 0,25 mg/mL e a capacidade redutora de ferro foi expressa em mg equivalente de Trolox (TE) por g de extrato seco e desengordurado.

4.6.4.2. ORAC

A capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) foi determinada pelo método de Dávalos et al. (2004), com modificações no preparo de amostras. Inicialmente, foram preparadas alíquotas de 5-25 µg/mL de solução Trolox (curva padrão) ou tampão fosfato (pH = 7,4). As alíquotas foram homogeneizadas em equipamento Ultra-Turrax® Tube Drive Control (IKA, Staufen, Alemanha) a 4000 rpm e inseridas em uma microplaca preta de 96 poços. Em um ambiente com ausência de luz, 20 µL de amostra homogeneizada, 120 µL de fluoresceína em tampão fosfato (pH 7,4) e 60 µL de 2-2'-azobis (2-metilpropionamida) dicloridrato (AAPH) (0,108 g/mL) foram adicionados em microplacas pretas. O leitor de microplacas FLUOstar Optima (BMG LABTECH, Ortenberg, Alemanha) foi ajustado (filtros fluorescentes, comprimento de onda de excitação, 485 nm; comprimento de onda de emissão, 520 nm). A fluorescência foi lida a cada 1 min, por um período total de 101 minutos. Os valores de capacidade antioxidante por ORAC foram expressos em mg Trolox equivalente (TE) por grama de amostra em base seca.

4.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas para os resultados obtidos das extrações da amêndoa de pequi foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) com 5% de significância pelo teste de Tukey. Os testes experimentais foram realizados com o auxílio do software MINITAB® (Release 16.1.0, Minitab Inc.). Os resultados da caracterização dos extratos foram expressos pela média $\pm$ desvio padrão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1.COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição da amêndoa de pequi em termos de carboidratos totais, cinzas, lipídios e proteínas pode ser visualizada na Tabela 9. O teor de umidade da amêndoa de pequi foi de $6,18 \pm 0,7\%$.

Tabela 9. Composição centesimal da amêndoa de pequi em base seca.

Componentes	Valores (%) $\pm$ Desvio padrão*
Carboidratos totais	$10,23 \pm 0,22$
Cinzas	$4,05 \pm 0,07$
Lipídios	$50,07 \pm 0,19$
Proteínas	$29,47 \pm 0,25$

Cornélio-Santiago et al. (2022) obtiveram, para amêndoa de pequi da safra de 2016 cultivada no estado de Goiás, carboidratos totais de $25,33 \pm 0,02\%$, cinzas de $4,54 \pm 0,03\%$, lipídios de $42,65 \pm 0,06\%$, proteínas de $27,48 \pm 0,05\%$. As análises de Sousa et al. (2011) e Lima et al. (2007) resultaram em carboidratos totais de 0,4 e 8,33%, cinzas de $4,54 \pm 0,02\%$ e $4,01 \pm 0,51\%$, lipídios de $50,00 \pm 0,66\%$ e $51,51 \pm 0,35\%$ e proteínas de $29,65 \pm 0,55\%$ e $25,27 \pm 0,74\%$, para amostras oriundas do cerrado brasileiro e colhidas em Santa Rosa-PI durante dezembro de 2004, respectivamente.

Os valores reportados na Tabela 9 para carboidratos foram semelhantes à composição relatada por Lima et al. (2007), e as concentrações dos outros componentes também foram similares às encontradas na literatura. Observou-se que os teores de carboidratos variaram consideravelmente em relação à origem da amostra. De acordo com Sánchez-Camargo et al. (2014), os compostos presentes e suas concentrações nas matrizes vegetais são influenciados por sua origem, safra, ano de colheita, entre outros.

Além disso, como a umidade da amêndoa de pequi foi inferior a 12%, a amostra não precisou ser submetida a secagem para a realização da SFE (GONÇALVES E ROMANO, 2020).

5.2.SFE

5.2.1. Rendimento global (X_0)

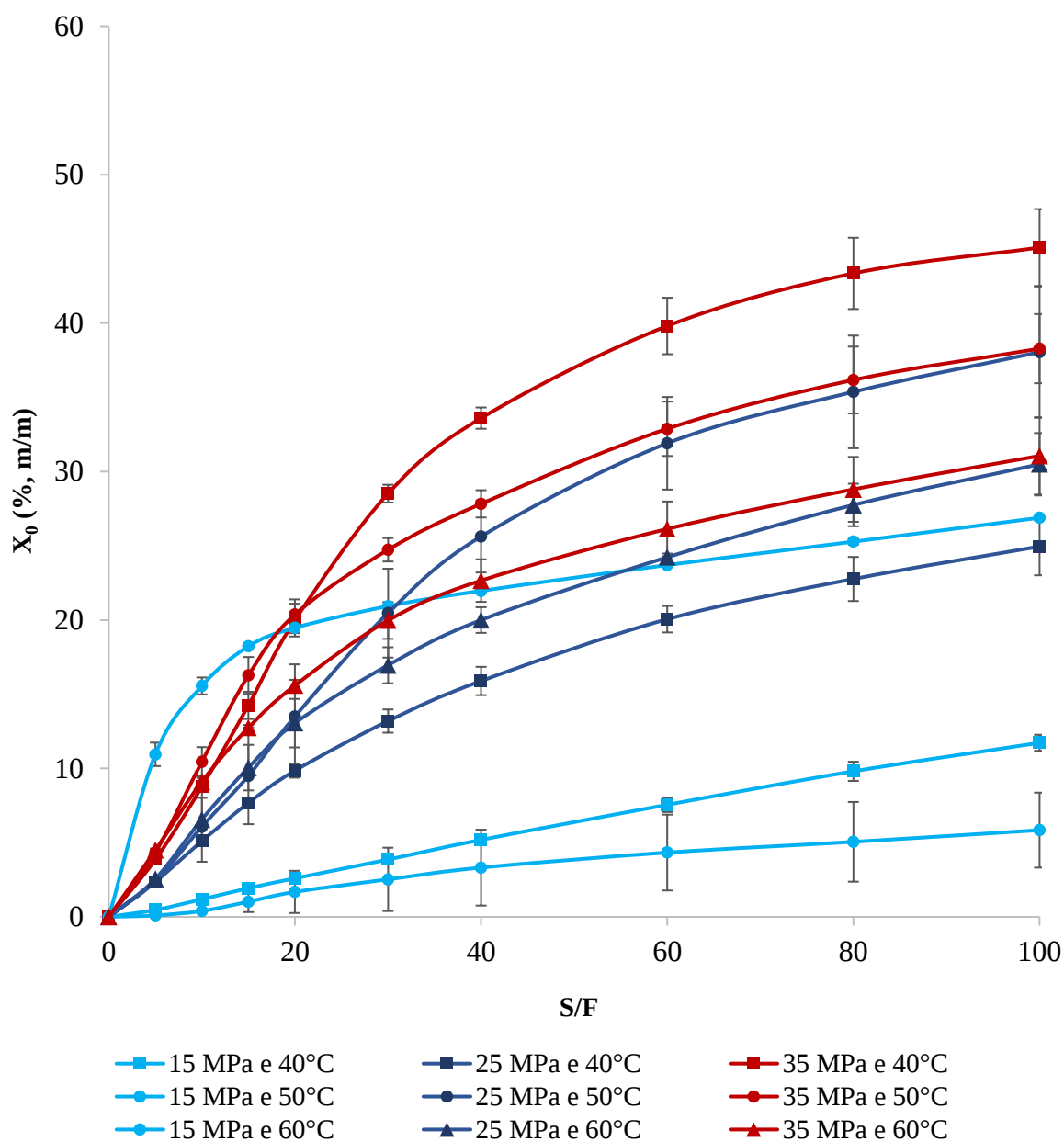
Os rendimentos globais da SFE de amêndoa de pequi podem ser visualizados na Tabela 10, e as curvas cinéticas de SFE estão apresentadas na Figura 16. Observa-se uma variação no rendimento global de 4,23 a 45,09% em diferentes combinações de pressão e temperatura.

Tabela 10. Rendimentos globais (X_0) da SFE de amêndoa de pequi nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressões de 15, 25 e 35 MPa.

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Densidade do CO ₂ (kg/m ³)	X_0 (% m/m) *
15	40	780,23	11,73 ± 0,54 ^d
25		879,49	24,95 ± 1,94 ^c
35		934,81	45,09 ± 2,59 ^a
15	50	669,75	26,89 ± 0,175 ^c
25		834,19	38,04 ± 4,42 ^{ab}
35		899,23	38,28 ± 2,33 ^{ab}
15	60	604,09	4,23 ± 0,25 ^d
25		786,55	30,49 ± 2,10 ^{bc}
35		862,94	31,06 ± 2,60 ^{bc}

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

Figura 16. Curvas de rendimento global (X_0) obtidas na SFE de amêndoa de pequi nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressões de 15, 25 e 35 MPa.



As Figuras 1B e 2B (Apêndice) apresentam as isotermas e isobáricas, respectivamente, obtidas para a SFE da amêndoa de pequi. Pode-se observar que a temperatura de 50 °C foi melhor para as pressões de 15 e 25 MPa. Isso não ocorreu na pressão de 35 MPa, mas não houve diferença estatística em relação à pressão de 25 MPa. Para a pressão, o rendimento global se estabilizou a 25 MPa, nas temperaturas de 50 °C e 60 °C. Além disso, foi observado o aumento do rendimento global na pressão de 35 MPa e temperatura de 40 °C. Isso

sugere que é necessário avaliar a pressão e a temperatura como uma combinação, e não como fatores individuais, pois isso irá influenciar no rendimento do processo.

As condições de SFE com maiores rendimentos globais foram 35 MPa e 40 °C (imagem do extrato na Figura 17), 35 MPa e 50 °C e 25 MPa e 50 °C com 45,09%, 38,28% e 38,04%, respectivamente. Maiores pressões e menores temperaturas promovem o aumento da densidade do solvente (Tabela 10) e, conseqüentemente, de seu poder de solvatação, o que proporciona rendimentos maiores (PARDO, 2016). Todavia, o aumento da temperatura também resulta no aumento da pressão de vapor dos solutos, gerando um efeito positivo na solubilidade, ao contrário do que ocorre com a redução da densidade (SANCHÉZ-CAMARGO et al., 2014). Logo, a temperatura pode ter efeitos antagônicos na solubilidade de compostos em CO₂ supercrítico e, portanto, no rendimento global da SFE.

Figura 17. Extrato obtido por SFE da amêndoa de pequi a 35 MPa e 40 °C.



Fonte: De autoria própria.

Além da temperatura e pressão, a compactação e geometria do leito, o teor de umidade e o diâmetro da amostra, e a razão S/F são fatores que exercem grande influência na SFE. A geometria do leito, que pode ser definida pela razão entre a sua altura e seu diâmetro, influencia na diminuição de S/F, que está associado a dispersão axial do fluido (ZABOT et al., 2014). Para evitar rendimentos de extração muito baixos, a umidade da amostra deve ser de até 12% e o diâmetro da partícula deve estar entre 0,25 e 2,00 mm, melhorando assim penetração do solvente na amostra (GONÇALVES E ROMANO, 2020; MEIRELES 2003). Diâmetros de

partícula muito pequenos tendem a compactar o leito de extração, dificultando a passagem do solvente e criando caminhos preferenciais. Logo, é necessário que o tamanho da partícula seja analisado para cada tipo de matriz (ZABOT et al., 2014).

Cornélio-Santiago (2019) obteve, para a SFE com CO₂ de amêndoas de pequi do estado de Goiás, rendimento global de 40,47% para a melhor condição de extração, que foi 60 °C e 35 MPa. Foram empregadas pressões de 25 e 35 MPa em temperaturas de 40, 50, 60, 70 e 80 °C, com S/F de 135 kg de CO₂/kg de amêndoa de pequi seca, tempos de extração estático e dinâmico de 20 e 90 minutos, respectivamente. Para a amostra submetida à pressão de 35 MPa e temperatura de 40 °C o rendimento foi de 34,30%.

As condições de SFE empregadas por Cornélio-Santiago (2019) foram similares às realizadas neste trabalho, com exceção de um S/F maior, tempo de extração dinâmico menor, diferença da região de origem das amêndoas de pequi, entre outros. Isso contribuiu para que as melhores condições fossem encontradas em temperaturas diferentes.

5.2.2. Composição de carotenoides totais

A Tabela 11 apresenta as concentrações de carotenoides totais presentes nos extratos obtidos por SFE da amêndoa de pequi nas condições de menor e maior densidade de CO₂, dentre as aplicadas. As concentrações de carotenoides variaram entre 5,35 e 40,01 µg/100 g de amêndoa, sendo que a maior concentração foi obtida a 35 MPa e 40 °C.

Tabela 11. Concentração de carotenoides totais nos extratos obtidos por SFE de amêndoa de pequi nas condições de menor e maior densidade de CO₂.

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Densidade do CO₂ (kg/m³)	Carotenoides Totais (µg β-caroteno /100 g de amêndoa) *
15	60	604,09	5,35 ± 0,18 ^b
35	40	934,81	40,01 ± 2,51 ^a

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

Os aumentos da pressão e da temperatura contribuem para melhores extrações de biomoléculas de cadeia longa, como os carotenoides (ZABOT et al., 2012). O poder de solvatação do CO₂ supercrítico a 20 MPa é similar ao do hexano, facilitando a extração destes compostos (TIWARI et al., 2022). Além disso, a diminuição do diâmetro de partícula pode contribuir para maiores rendimentos de extração de carotenoides da matriz (GOTO et al., 1994).

Bulló et al. (2015) relataram concentrações de carotenoides em amêndoas, avelãs, nozes pecãs e pistaches crus de 2, 106, 55 e 332 µg/100 g de castanha, respectivamente. Torres et al. (2016) obtiveram entre 36,03 e 262,40 µg/100 g de carotenoides no óleo de amêndoa de pequi extraído por prensagem a frio. Ribeiro et al. (2014) encontraram entre 3700 e 18700 µg/100 g de carotenoides na polpa de frutos de pequi nativos do cerrado brasileiro.

Logo, comparado com outras castanhas, a amêndoa de pequi pode ser considerada uma boa fonte de carotenoides. Todavia, a polpa do fruto é mais rica em carotenoides que a amêndoa.

5.2.3. Composição de tocóis

A Tabela 12 apresenta as concentrações de tocoferóis e tocotrienóis dos extratos obtidos da amêndoa de pequi por SFE em diferentes condições de temperatura e pressão. Dentre os tocóis, o α -tocoferol se destacou, com 112,45 µg/g de óleo obtidos na condição de 15 MPa e 60 °C. As concentrações de β - e γ -tocoferol variaram entre 10,27 e 68,41 µg/g de óleo, e as de α -tocotrienol entre 1,63 e 3,97 µg/g de óleo. As melhores condições para a obtenção de tocóis foram 15 MPa e 60 °C e 35 MPa e 40 °C. Foram encontrados apenas traços de δ -tocoferol, β - e γ -tocotrienol e δ -tocotrienol. Além disso, não foi identificada a presença de δ -tocotrienol nos extratos obtidos a 15 e 25 MPa a 40 °C e 15 MPa a 60 °C. As concentrações de tocoferóis e tocotrienóis obtidos por SFE em diferentes condições de temperatura e pressão podem ser visualizadas nas Figuras 18 e 19.

Tabela 12. Concentrações de tocoferóis e tocotrienóis nos extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C e pressões de 15, 25 e 35 MPa.

Condição			Composto (µg/g de óleo) *			
Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Densidade do CO ₂ (kg/m ³)	α-tocoferol	β/γ-tocoferol	α-tocotrienol	Tocóis Totais
15	40	780,23	12,06 ± 0,28 ^{cd}	11,56 ± 0,41 ^c	3,54 ± 0,12 ^b	27,16 ± 0,81 ^d
25		879,49	21,29 ± 3,51 ^{cd}	13,29 ± 1,45 ^c	2,03 ± 0,16 ^c	36,61 ± 5,11 ^d
35		934,81	76,92 ± 6,79 ^b	60,05 ± 5,57 ^a	3,97 ± 0,11 ^a	140,95 ± 12,46 ^b
15	50	669,75	66,99 ± 0,70 ^b	31,98 ± 1,78 ^b	traços	98,98 ± 2,48 ^c
25		834,19	15,46 ± 0,07 ^{cd}	10,96 ± 0,15 ^c	traços	26,42 ± 0,22 ^d
35		899,23	14,85 ± 3,51 ^{cd}	11,64 ± 0,47 ^c	2,00 ± 0,04 ^{cd}	28,49 ± 2,89 ^d
15	60	604,09	112,45 ± 12,25 ^a	68,41 ± 7,69 ^a	traços	180,86 ± 19,90 ^a
25		786,55	14,72 ± 0,75 ^{cd}	10,27 ± 0,42 ^c	1,63 ± 0,04 ^{cd}	26,62 ± 1,21 ^d
35		862,94	26,47 ± 1,11 ^c	13,79 ± 0,28 ^c	2,09 ± 0,04 ^c	42,34 ± 1,34 ^d

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

Figura 18. Concentrações de tocoferóis nos extratos obtidos por SFE em diferentes condições de temperatura e pressão.

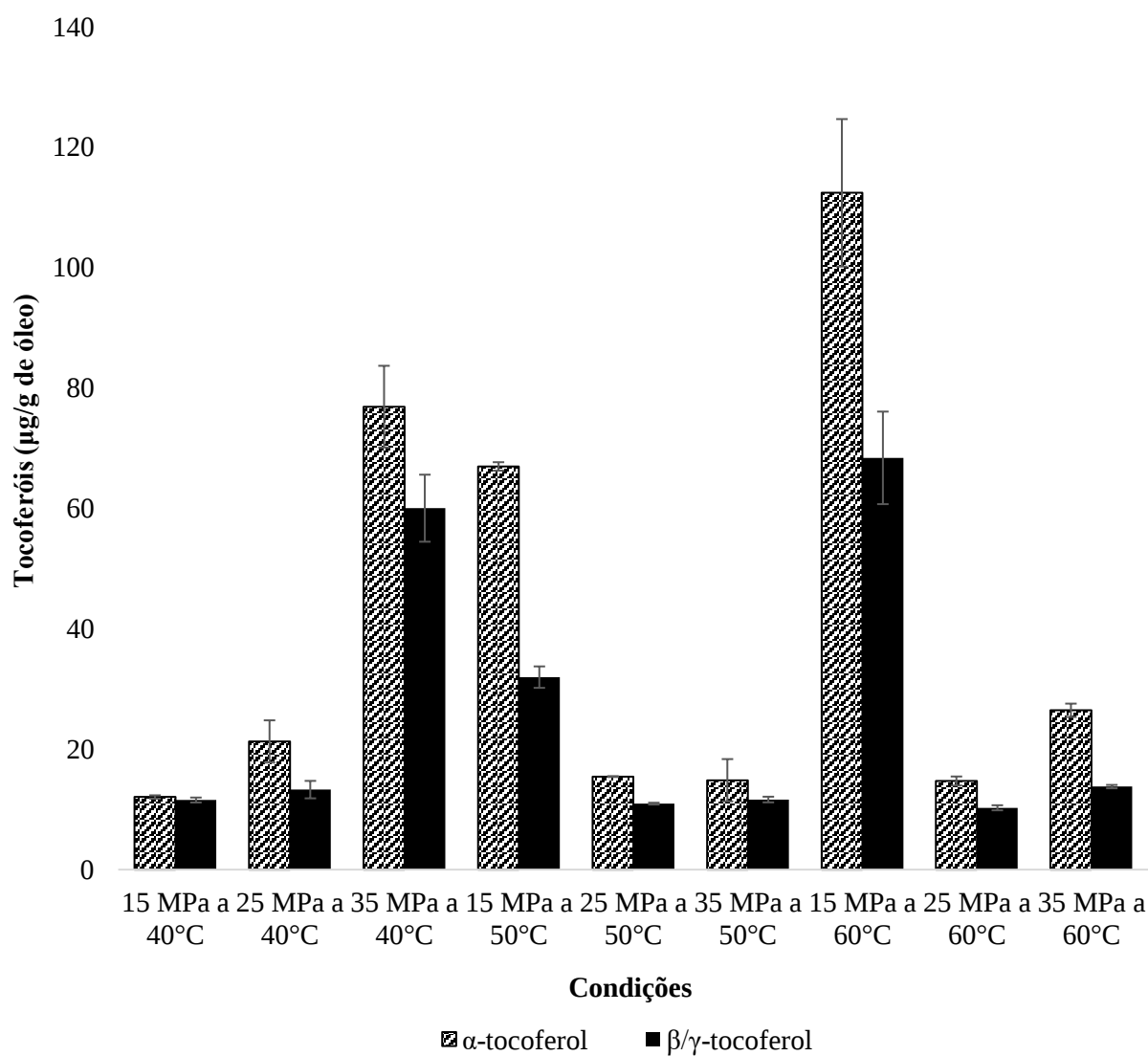
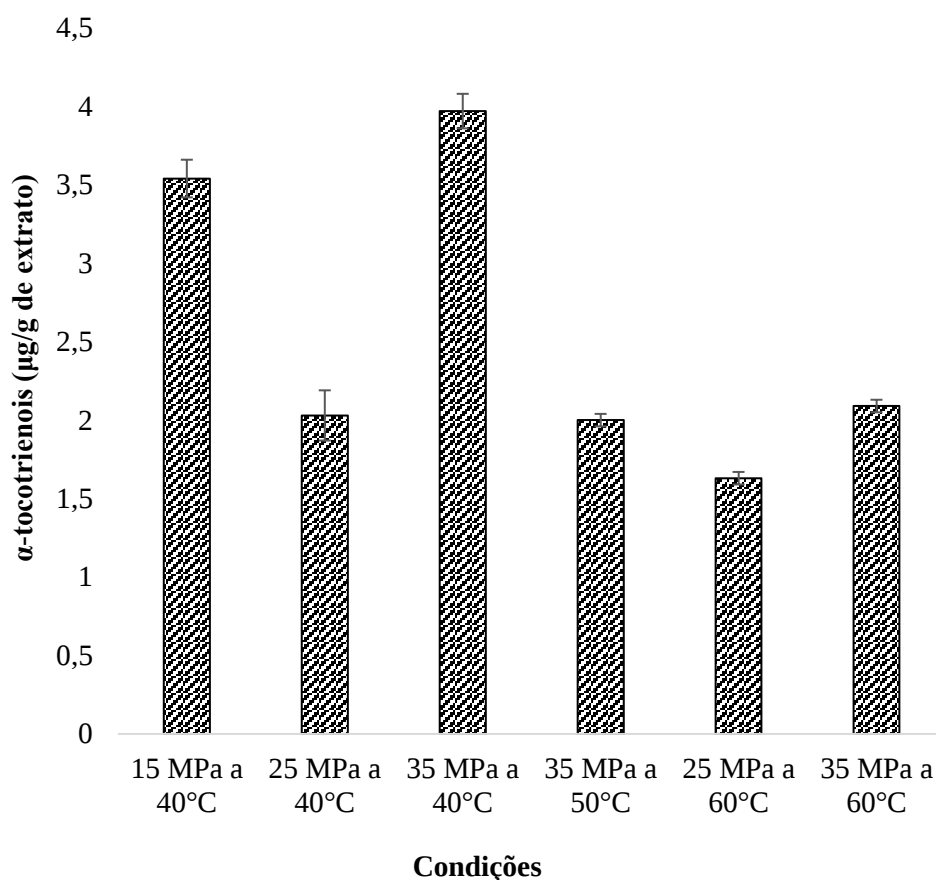


Figura 19. Concentrações de tocotrienóis nos extratos obtidos por Soxhlet e por SFE em diferentes condições de temperatura e pressão.



As Figuras 3B e 4B (Apêndice) apresentam as isotermas e isobáricas, respectivamente, analisadas em diferentes condições de pressão e temperatura, para a composição de tocóis totais do óleo da amêndoa de pequi extraído por SFE. Na pressão de 15 MPa as temperaturas de 50 e 60 °C obtiveram maior extração de tocóis totais, enquanto a 40 °C a melhor pressão foi 35 MPa. Para as isobáricas, a temperatura de 60 °C foi a melhor para todas as pressões, tendo uma influência expressiva a 15 MPa.

Ng e Kushairi (2017) observaram que pressões menores foram mais eficientes para a separação de tocóis no óleo de palma por SFE. Além da pressão, a temperatura também influencia na extração destes compostos, uma vez que seu aumento promove uma maior solubilidade destes no solvente devido ao aumento da sua pressão de vapor (SANCHÉZ-CAMARGO et al., 2014). Viganó et al. (2016b) observaram maiores rendimentos de tocóis na SFE de semente de maracujá em condições com densidades de CO_2 abaixo de 748 kg/m^3 , nas quais as pressões e as temperaturas são mais baixas e altas, respectivamente. Logo, temperaturas

altas e pressões baixas podem promover uma maior seletividade dos compostos α -tocoferol, β -e γ -tocoferol, conforme apresentado na Tabela 12 e na Figura 18, e o aumento dos teores de α -tocotrienol é influenciado pelo aumento da densidade do CO₂ (Tabela 12 e Figura 19).

Torres et al. (2016) encontraram teores de tocoferóis de até 192 $\mu\text{g/g}$ de óleo da amêndoa de pequi extraído por prensagem a frio, dentre os quais o α -tocoferol foi o mais presente, com variações de 52 a 67% da quantidade total. Os tocoferóis contribuem para a estabilidade do óleo contra a oxidação (SPITZER et al., 2013; TORRES et al., 2016).

Alasalvar e Bolling (2015) relataram concentrações de tocóis totais para amêndoa, avelã, castanha do brasil, noz pecã, noz, pinhão e pistache de 286,0; 513,1; 201,5; 491,1; 437,2; 458,0 e 397,7 $\mu\text{g/g}$ de óleo, respectivamente. Logo, em comparação com outras castanhas, a amêndoa de pequi tem baixa quantidade de tocóis totais.

5.2.4. Composição de glicerídeos e triacilgliceróis

A Tabela 13 apresenta a composição de glicerídeos para os extratos lipídicos da amêndoa de pequi obtidos por SFE nas condições de menor e maior densidade do CO₂. O extrato é composto majoritariamente de triacilgliceróis, entre 94,13 e 95,37%, seguido de diacilgliceróis, entre 3,67 e 4,01% e a soma de monoacilgliceróis e ácidos graxos livres, entre 0,96 e 1,86%.

Tabela 13. Compostos glicerídeos dos extratos de amêndoa de pequi obtidos por Soxhlet e por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.

Compostos Glicerídeos	Condição (%)	
	15 MPa e 60 °C	35 MPa e 40 °C
Classe		
TAG	94,13	95,32
DAG	4,01	3,68
MAG+AG	1,86	1,00

TAG: triacilgliceróis; DAG: diacilgliceróis; MAG: monoacilgliceróis; AG: ácidos graxos livres.

O óleo de soja contém cerca de 98% de triacilgliceróis, 1% de diacilgliceróis e 1% de monoacilgliceróis e ácidos graxos livres (JOKIĆ et al., 2010). 95 a 97% da composição de glicerídeos dos óleos comestíveis são constituídos por triacilgliceróis (TAG). Além disso, a

quantidade de TAG é um padrão qualitativo, pois sua composição influencia na composição físico-química do óleo (WEI et al., 2023).

A composição de TAG dos extratos obtidos por SFE pode ser visualizada na Tabela 14, para as condições de menor e maior densidade do CO₂. Foi observado que os TAG POO (Palmítico, Oleico, Oleico) e o POP (Palmítico, Oleico, Palmítico) são os maiores constituintes dos extratos com composição entre 34,99 e 35,49% e 31,67 e 31,77%, respectivamente.

Tabela 14. Composição de TAG dos extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.

Composição de TAG		Condição (%)	
Quantidade de carbonos	Sigla	15 MPa e 60°C	35 MPa e 40°C
C48	PPP	0,97	0,98
C50	POP	31,67	31,77
	PLP	6,69	6,53
C52	POS	3,12	3,35
	POO	34,99	35,49
	PLO	6,95	6,83
	PLL	0,77	0,61
C54	SOS	0,35	0,50
	SOO	1,72	1,66
	OOO	10,23	10,07
	OLO	2,06	1,78

L: linoleico; O: oleico; S: esteárico; P: palmítico.

O óleo de soja extraído por SFE com o uso de CO₂ como solvente resultou em cerca de 1,49% de POO e 0,54% de POP (JOKIĆ et al., 2010). Já o azeite de oliva iraniano apresentou de 20 a 25% e 3,5 a 4,5% de POP e POO, respectivamente (PIRAVI-VANAK et al., 2009).

Cornelio-Santiago et al. (2022) encontraram percentuais de 31,55% para POO e 29,66% para POP, como TAG majoritários em extratos da amêndoa de pequi obtidos por PLE com isopropanol.

Observou-se que as condições de SFE não exerceram grande influência na composição de glicerídeos e TAG, tendo em vista que esta foi similar para as duas amostras e

à composição encontrada por Cornelio-Santiago et al. (2022). Logo, é interessante escolher a condição com menor custo operacional para a obtenção destes compostos.

5.2.5. Perfil de ácidos graxos

A Tabela 15 apresenta o perfil de ácidos graxos dos extratos da amêndoa de pequi obtidos por SFE nas condições de menor e maior densidade do CO₂. Pode-se perceber que os extratos não apresentam ácidos graxos de cadeia curta, e que a maior parte de sua composição é de ácidos oleico e palmítico.

Tabela 15. Perfil de ácidos graxos dos extratos amêndoa de pequi obtidos por Soxhlet e por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.

Ácidos Graxos		Condição (%)	
		15 MPa e 60 °C	35 MPa e 40 °C
C10:0	Cáprico	0,01	0,01
C12:0	Láurico	0,11	0,13
C14:0	Mirístico	0,46	0,45
C15:0	pentadecanóico	0,04	0,04
C16:0	palmítico	35,92	34,85
C16:1	palmitoléico	0,70	0,74
C17:0	margárico	0,10	0,10
C17:1	cis-9-heptadecenóico	0,05	0,05
C18:0	esteárico	2,48	2,65
C18:1	oleico	52,23	53,03
C18:2 T	linolelaídico	0,07	0,15
C18:2	linoléico	7,10	7,02
C18:3 T	linolenelaídico	0,03	0,06
C18:3	linolênico	0,17	0,19
C20:0	araquídico	0,24	0,26
C20:1	eicosenóico	0,11	0,11
C22:0	behênico	0,07	0,07
C24:0	lignocérico	0,10	0,09

O ácido oleico é um ácido graxo monoinsaturado, que age como marcador inflamatório, contribui para a redução do colesterol, risco de úlceras e promove a melhora na

atividade secretora do fígado (AGREGÁN et al., 2022; PICCININ et al., 2019). O ácido palmítico desempenha papel estrutural nas membranas celulares e no útero. Todavia, o consumo em excesso deste ácido graxo pode causar problemas cardiovasculares (AGOSTONI et al., 2016).

O óleo de soja apresenta cerca de 17% de ácido palmítico e 16% de ácido oleico. A maior parte de sua composição é de ácido linoléico, cerca de 48% (IVANOV; LEVIĆ; SREDANOVIĆ, 2010). Entretanto, o azeite de oliva, que é conhecido por suas propriedades nutracêuticas, anti-inflamatórias, antioxidante e cardiotônica, apresenta uma quantidade percentual de ácidos palmítico, oleico e linoleico na mesma faixa da amêndoa de pequi, cerca de 7 a 20%, 55 a 83% e 3 a 21%, respectivamente (GARCÍA-GONZÁLEZ; APARICIO-RUIZ; APARICIO, 2008; MATEOS et al., 2005).

Torres et al. (2016) obtiveram entre 56,34 e 59,99 % de ácido oleico e 36,77 e 28,48% de ácido palmítico para o óleo da amêndoa de pequi extraído por processos artesanais e prensagem a frio, respectivamente. Logo, a metodologia e as condições de extração não exercem grande influência na composição percentual de ácidos graxos do óleo da amêndoa de pequi. Do ponto de vista nutricional, é importante que haja o consumo moderado do óleo de amêndoa de pequi por conta dos teores de ácido palmítico.

5.2.6. Análise Térmica

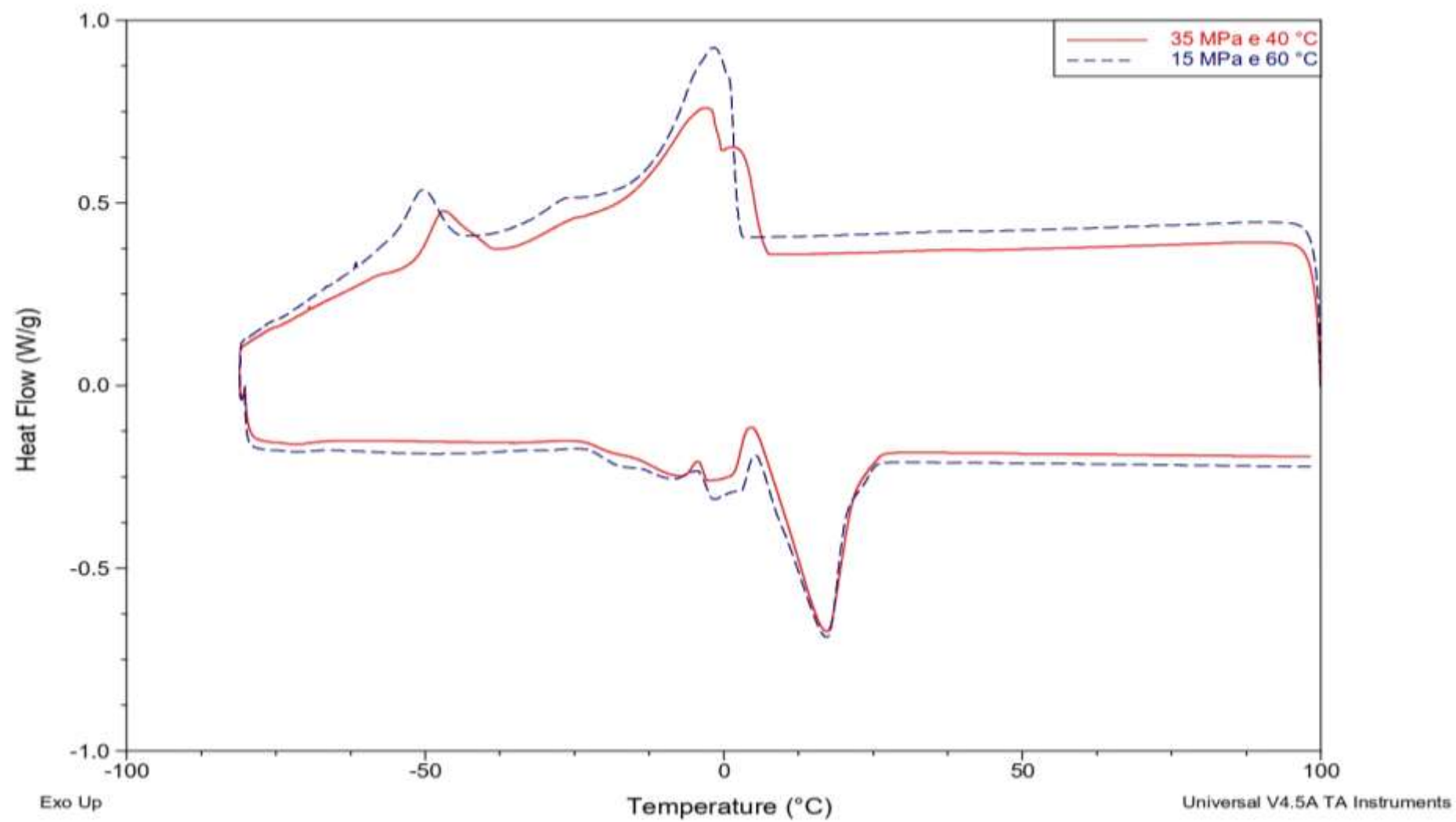
A Tabela 16 apresenta os parâmetros de temperatura, entalpia e altura do pico obtidos por DSC para a cristalização e fusão dos extratos da amêndoa de pequi obtidos por SFE nas condições de menor e maior densidade do CO₂. Pode-se perceber, pela Figura 20, que foi detectado apenas um pico endotérmico e um pico exotérmico para todas as condições, e as curvas foram similares.

Tabela 16. Parâmetros determinados por DSC para os extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE nas condições de menor e maior rendimento global.

Pressão (MPa)	Temperatura (°C)	Evento DSC	T_{inicial} (°C)	T_{final} (°C)	T_{máx} de pico (°C)	Entalpia (J/g)	Altura do pico (W/g)
15	60	Cristalização	3,10	-37,33	-1,56	46,05	0,51
		Fusão	5,12	25,96	17,14	53,62	-0,48
35	40	Cristalização	6,48	-38,21	-2,84	44,57	0,39
		Fusão	4,11	26,85	17,16	60,63	-0,51

Tan e Che Man (2000) relataram que as propriedades térmicas são influenciadas pela composição de TAG presentes nas frações lipídicas, que afetam os picos de cristalização e de fusão do óleo ou da gordura, onde os TAG saturados se cristalizam em temperaturas mais altas que insaturados. Guedes et al. (2017) observaram este comportamento dos TAG para as curvas de DSC do óleo da polpa de pequi.

Figura 20. Curvas de fusão e cristalização dos extratos de amêndoa de pequi obtidos por SFE.



O DSC fornece as informações das propriedades térmicas da matriz, como temperaturas de cristalização e fusão, temperatura de transição vítrea, entalpia, calores específico e latente, polimorfismo e pureza da amostra. Essas informações são de grande importância para indústria, uma vez que é necessário conhecer essas propriedades para a formulação de produtos nos setores alimentício, cosmético, farmacêutico, metalúrgico, entre outros. Além disso, a técnica pode ser aplicada em uma ampla faixa de temperatura, entre -90 a 550 °C (LEYVA-PORRAS et al., 2019).

5.3. PLE

5.3.1. Rendimento global (X_0)

Os rendimentos globais dos extratos da amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE estão informados na Tabela 17. Os maiores rendimentos globais foram alcançados com concentrações de 50 e 75% de etanol em água na temperatura de 110 °C. A Figura 21 apresenta imagens dos extratos obtidos por PLE com 75% de etanol a 110°C. As curvas de rendimento global da PLE de amêndoa de pequi desengordurada podem ser visualizadas na Figura 22.

Figura 21. Extratos obtidos por PLE da amêndoa desengordurada de pequi a 110 °C com 75% de etanol em água, de 5 a 60 minutos de extração; 1) 5 min; 2) 10 min; 3) 15 min; 4) 20 min; 5) 30 min; 6) 40 min; 7) 50 min; 8) 60 min.



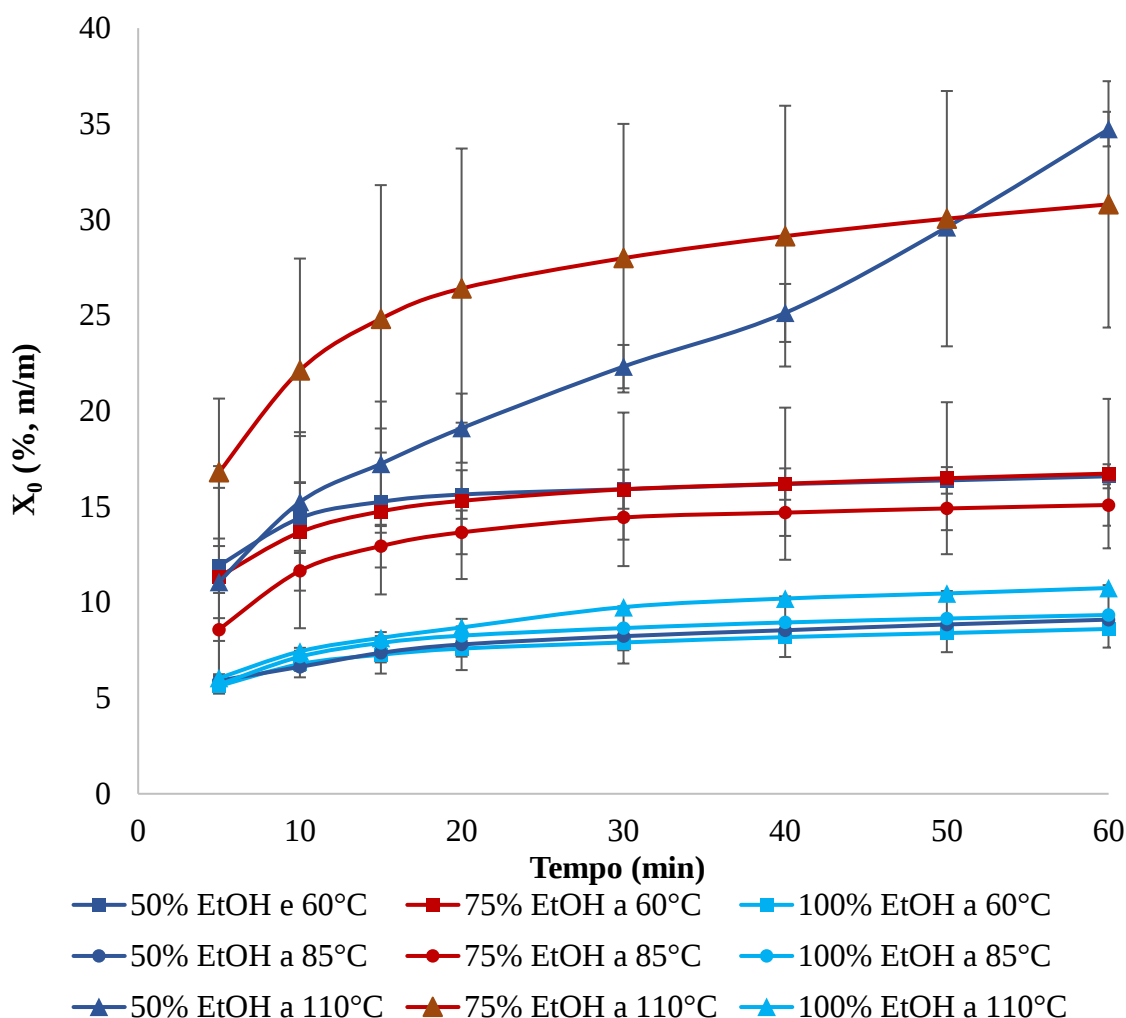
Fonte: De autoria própria.

Tabela 17. Rendimentos globais dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE com concentrações de etanol em água de 50, 75 e 100% e temperaturas de 60, 85 e 110 °C.

Concentração de EtOH (%)	Temperatura (°C)	X ₀ (% m/m) *
50	60	16,59 ± 0,63 ^b
75		16,73 ± 3,90 ^b
100		8,61 ± 0,11 ^b
50	85	9,10 ± 1,46 ^b
75		15,09 ± 1,08 ^b
100		9,34 ± 0,02 ^b
50	110	34,72 ± 0,90 ^a
75		30,79 ± 6,43 ^a
100		10,75 ± 0,15 ^b

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

Figura 22. Curvas de rendimento global (X_0) da PLE de amêndoa de pequi desengordurada com concentrações de etanol em água de 50, 75 e 100% e temperaturas de 60, 85 e 110 °C.



O aumento da temperatura diminui a viscosidade e tensão superficial do solvente, facilitando a sua penetração na matriz vegetal (PAGANO et al., 2021). Isso intensifica a difusão do solvente na matriz e a dessorção dos solutos, promovendo dissolução destes no solvente e, consequentemente, o aumento do rendimento global (WIANOWSKA; GIL, 2019). Além disso, a combinação de etanol e água como solventes também interfere na eficiência do processo (VIGANÓ et al., 2016a).

A Figura 5B (Apêndice) apresenta as isotermas nas temperaturas de 60, 85 e 110 °C, e concentrações de EtOH de 50, 75 e 100% para o rendimento global da PLE da amêndoa de pequi desengordurada. Nota-se a grande influência da mistura de etanol e água no aumento do rendimento global da PLE. De Aguiar et al. (2019) observaram, para PLE de pimenta

biquinho, rendimentos globais maiores com misturas de etanol e água a 50 e 75%. Isso ocorre porque a água possui uma polaridade alta e o etanol uma polaridade média. Logo, alguns compostos como proteínas, carboidratos e minerais, mais polares, são mais solúveis em água, contribuindo para o aumento dos rendimentos das extrações (DE AGUIAR et al., 2019).

Martins et al. (2022) conseguiram, para a PLE da semente de tamarindo, rendimentos globais de 9,4 a 15,6%. Etanol puro e mistura de 50% de etanol em água foram usados como solventes, com pressão de 10 MPa. Temperaturas de 60, 80 e 100 °C foram empregadas em tempos de extração de 25 e 30 minutos para a mistura de etanol em água e etanol puro, respectivamente. A melhor condição de extração foi obtida na temperatura de 80 °C com a mistura de etanol e água como solvente.

5.3.2. Concentração de fenólicos totais

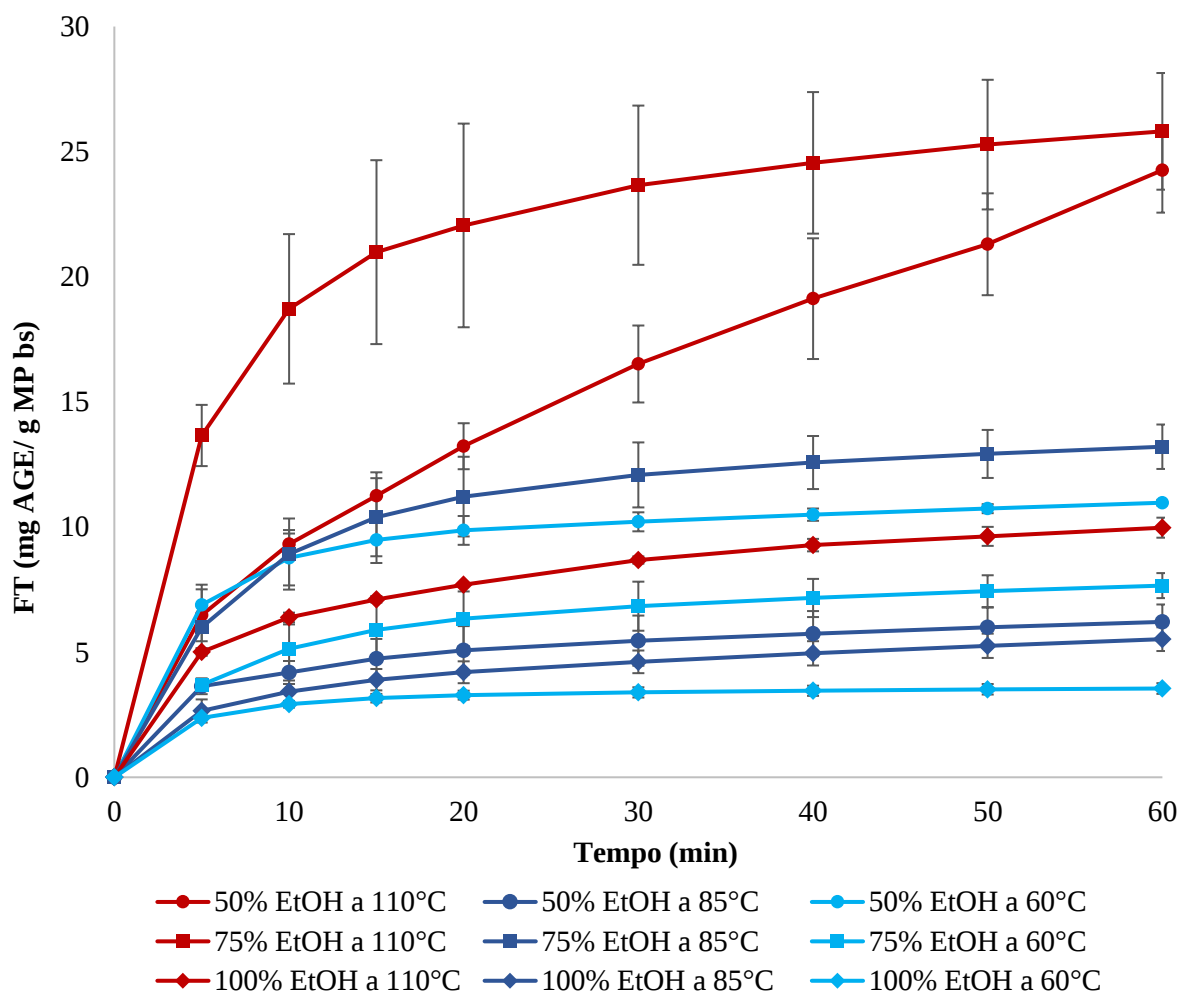
A Tabela 18 e a Figura 23 apresentam as concentrações e as curvas de extração de fenólicos totais, respectivamente, para os extratos de amêndoa de pequi obtidos por PLE com diferentes composições de solvente e temperaturas. Pode ser observado que na temperatura mais alta, de 110 °C, houve maior extração de fenólicos totais, na qual as concentrações de etanol de 50 e 75% proporcionaram os maiores rendimentos.

Tabela 18. Concentrações de fenólicos totais dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE com concentrações de etanol em água de 50, 75 e 100% e temperaturas de 60, 85 e 110 °C.

Concentração de EtOH (%)	Temperatura (°C)	Fenólicos Totais (mg AGE/g MP BS) *
50	60	$10,97 \pm 0,11^{bc}$
75		$7,66 \pm 0,38^{cde}$
100		$3,55 \pm 0,21^e$
50	85	$6,21 \pm 0,70^{de}$
75		$13,21 \pm 0,89^b$
100		$5,52 \pm 0,47^e$
50	110	$24,26 \pm 1,70^a$
75		$25,81 \pm 2,33^a$
100		$9,97 \pm 0,40^{bcd}$

* Letras iguais na mesma coluna determinam que não há diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) de significância pelo teste de Tukey. BS: matéria-prima em base seca.

Figura 23. Curvas de PLE fenólicos totais (FT) de amêndoa de pequi desengordurada nas temperaturas de 60, 85 e 110 °C e proporções de etanol em água de 50, 75 e 100%.



As melhores condições para a extração de compostos fenólicos foram na temperatura de 110 °C com 50 e 75% de etanol. Aguiar et al. (2019) obtiveram maiores rendimentos de extração destes compostos com composição de etanol em água de 75%. As misturas de etanol em água são mais eficientes para extrair compostos fenólicos (VIGANÓ et al., 2016a). Além disso, o aumento da temperatura também pode contribuir para a extração de compostos fenólicos (BARRALES et al., 2018).

Torres et al. (2016) obtiveram concentrações de fenólicos totais entre 8,76 e 39,2 mg AGE/g de óleo, na parte polar do óleo de amêndoa de pequi extraído por prensagem a frio.

5.3.3. Identificação e quantificação de compostos fenólicos

Para identificação dos compostos fenólicos presentes na amêndoa de pequi, foram testados os padrões listados na Tabela 19, escolhidos mediante disponibilidade no laboratório e com base em estudos anteriores (BRAGA et al., 2022; CHISTÉ; MERCADANTE, 2012; DO NASCIMENTO-SILVA; NAVES, 2019).

Tabela 19. Compostos padrões utilizados para a análise de identificação de compostos fenólicos para extratos da amêndoa de pequi obtidos por PLE.

Composto padrão	Tempo de retenção (min)
Ácido cafeico	0,260
Ácido gálico	0,274
Catequina	0,554
Epicatequina	3,157
Ácido elágico	3,137
Rutina	3,249
Quercertina	4,761

Comparando os cromatogramas, foi possível constatar que, dentre os compostos padrões, apenas o ácido elágico pôde ser encontrado na amêndoa de pequi. Desta forma, foram realizadas as análises para quantificação de ácido elágico dos extratos obtidos nas três melhores condições de PLE considerando a obtenção de compostos fenólicos (Tabela 20). A maior concentração de ácido elágico foi encontrada no extrato obtido com 75% de etanol a 110 °C, no qual foi encontrado 615,0 µg/mL. O aumento da temperatura e o percentual de 75% de etanol no solvente contribuem para a otimização da PLE e extração de compostos fenólicos (BARRALES et al., 2018; VIGANÓ et al., 2016a).

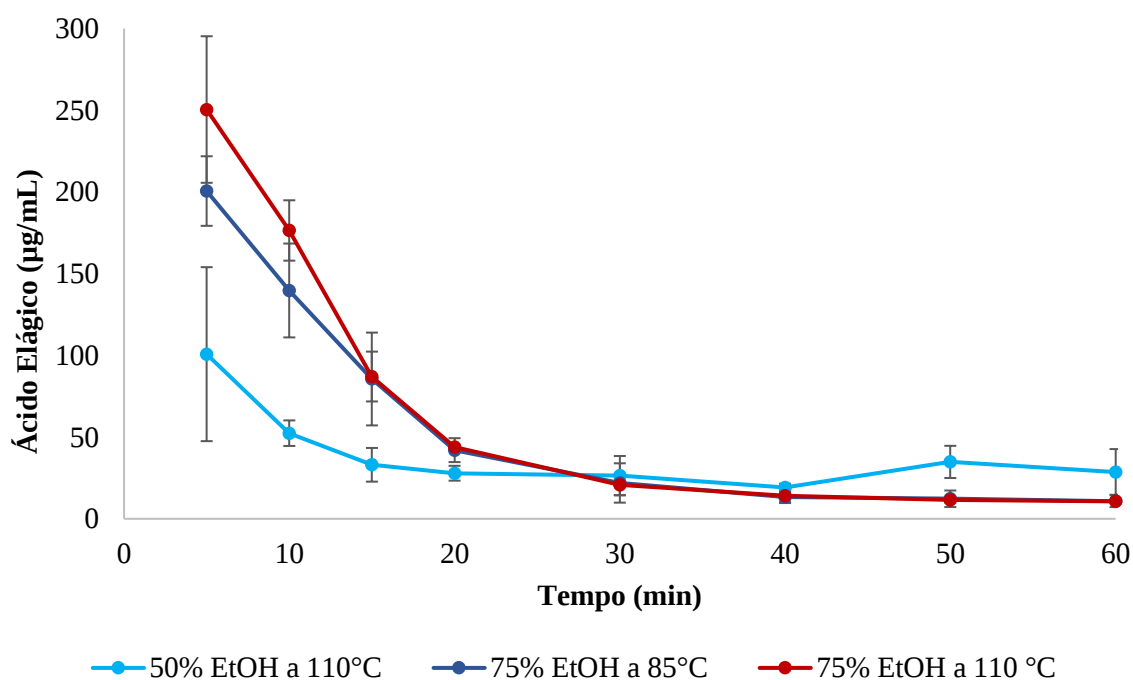
Tabela 20. Concentrações de ácido elágico nos extratos obtidos por PLE da amêndoa de pequi desengordurada nas melhores condições de obtenção de fenólicos.

Concentração de EtOH (%)	Temperatura (°C)	Ácido Elágico (µg/mL) *
50	110	332,2 ± 55,7 ^b
75	85	526,1 ± 46,8 ^a
	110	615,0 ± 22,3 ^a

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

Observou-se também que, nos primeiros 20 minutos de PLE, foram obtidos aproximadamente 66, 89 e 91% da quantidade total extraída de ácido elágico com concentrações de etanol em água de 50% e 75% e temperaturas de 110 °C e 85 e 110 °C, respectivamente (Figura 24). Isso sugere que não há necessidade da realização de extrações prolongadas de PLE visando à recuperação de compostos fenólicos, uma vez que a maior parte destes compostos é extraída em curtos períodos de tempo.

Figura 24. Quantidade de ácido elágico extraído em função tempo de extração na PLE de amêndoa desengordurada de pequi nas melhores condições de obtenção de fenólicos.



Chisté e Mercadante (2012) identificaram por HPLC, como principais compostos fenólicos para o piquiá (*Caryocar villosum*), cerca de 182,4 µg/g de polpa (ácido gálico), 107 µg/g de polpa (ácido ramnosídeo) e 104 µg/g de polpa (ácido elágico). Braga et al. (2022) identificaram por HPLC-MS ácido gálico, catequina, ácidos cafeico, protocatecúico, gentísico, p-cumárico, vanílico, elágico, quercetina, epicatequina, rutina, naringenina, luteolina e kaempferol para os extratos etanólicos da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.).

5.3.4. Capacidade antioxidante

A presença de compostos fenólicos pode estar relacionada à capacidade antioxidante (OLIVEIRA et al., 2023; ZHANG et al., 2023) dos extratos. Logo, foram feitas análises de capacidade antioxidante pelos métodos FRAP e ORAC, nas três melhores condições para obtenção de compostos fenólicos.

As capacidades de redução de oxigênio (ORAC) e férrica (FRAP) dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE podem ser visualizados nas Tabelas 21 e 22, respectivamente. Percebeu-se que a melhor condição de PLE para capacidade antioxidante ORAC foi a de 75% de etanol a 110 °C, que é também a melhor condição para extração de compostos fenólicos. Para FRAP, as diferenças de concentração do solvente e temperaturas das três melhores condições de PLE não foram significativas. As variações da capacidade antioxidante dos extratos com o tempo de PLE podem ser visualizadas nas Figuras 25 e 26 para ORAC e FRAP, respectivamente.

Tabela 21. Capacidade antioxidante determinada por ORAC dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.

Método	Concentração de EtOH (%)	Temperatura (°C)	Capacidade antioxidante (mg TE/g BS) *
ORAC	50	110	36,05 ± 0,13 ^b
	75	85	31,56 ± 2,42 ^b
		110	49,49 ± 2,97 ^a

* Letras iguais na mesma coluna determinam que não há diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) de significância pelo teste de Tukey. BS: matéria-prima em base seca.

Tabela 22. Capacidade antioxidante determinada por FRAP dos extratos de amêndoa de pequi desengordurada obtidos por PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.

Método	Concentração de EtOH (%)	Temperatura (°C)	Capacidade antioxidante (mg TE/g BS) *
FRAP	50	110	55,08 ± 5,72 ^a
	75	85	44,24 ± 5,34 ^a
		110	53,94 ± 3,02 ^a

* Letras iguais na mesma coluna determinam que não há diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) de significância pelo teste de Tukey. BS: matéria-prima em base seca.

Figura 25. Capacidade antioxidante dos extratos determinada por ORAC em função do tempo de PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.

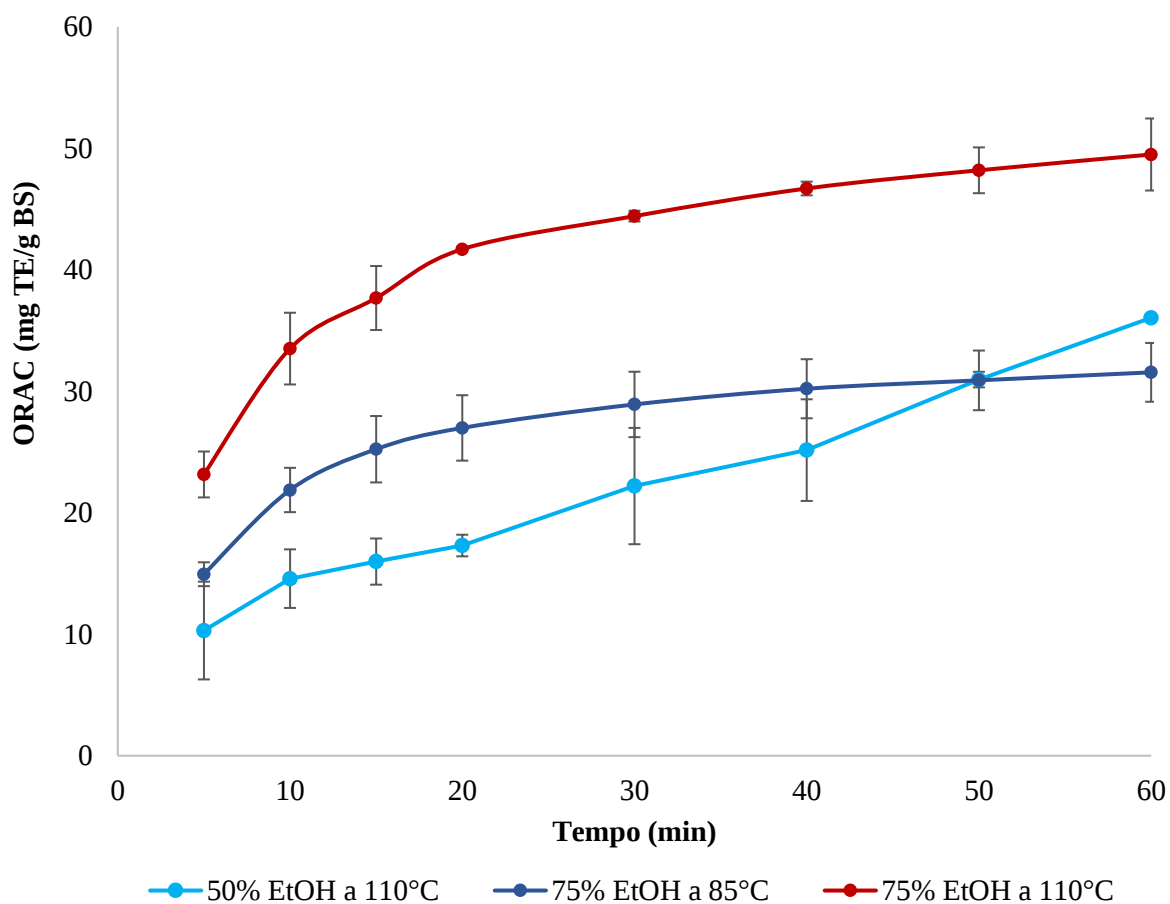
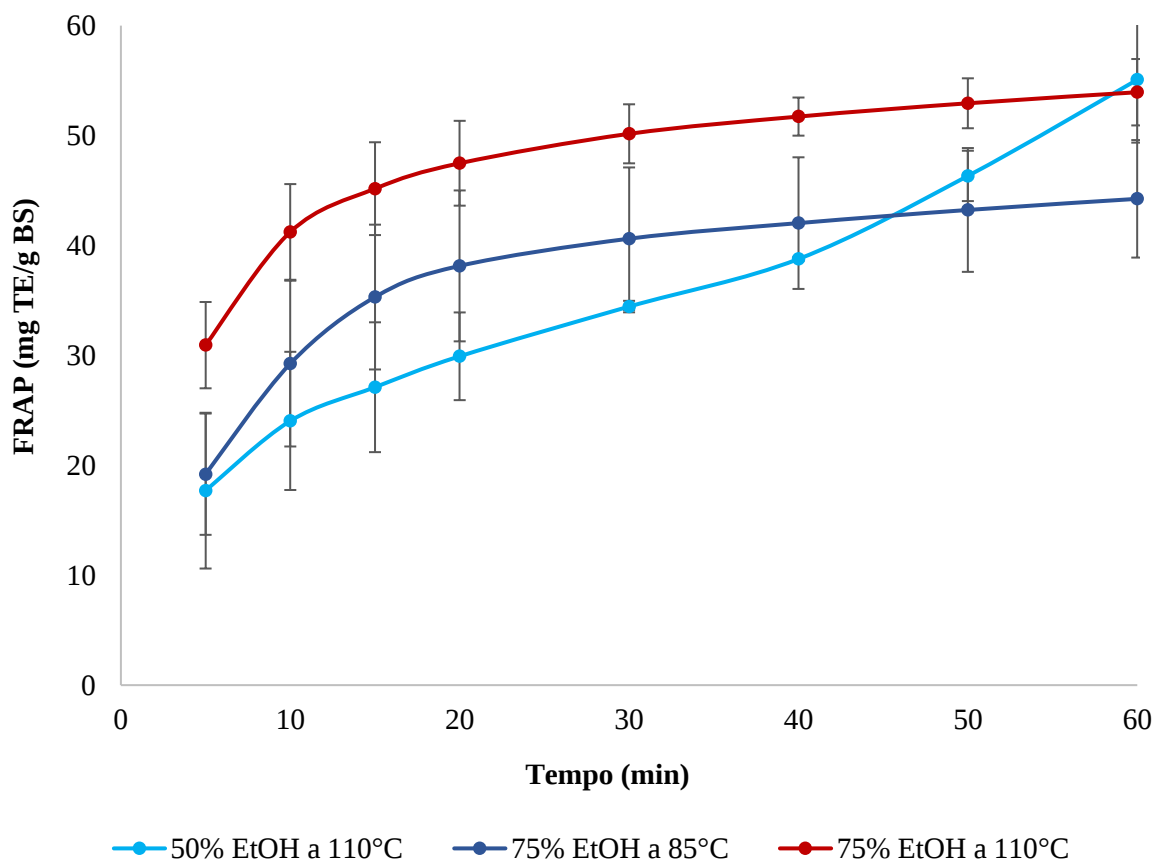


Figura 26. Capacidade antioxidante dos extratos determinada por FRAP em função do tempo PLE nas melhores condições de obtenção de fenólicos.



Ivy et. al (2021) encontraram, para a capacidade antioxidante dos extratos obtidos de castanha de baru (*Dipteryx alata* Vog.) com 80% de etanol em banho ultrassônico, 0,00125 mg TE/mL de ORAC e 0,014 mg TE/mL de FRAP. Smeriglio et al. (2021) e Cheung et al. (2023) observaram, para casca de pistache e para o extrato bruto das nozes da Geórgia não digeridas, capacidades antioxidantes ORAC e FRAP de 6,18 e 9,00 $\mu\text{g/mL}$ e 15,4 mmol TE/100 g de nozes e 7,0 mmol Fe^{2+} eq./100 g de nozes, respectivamente.

6 CONCLUSÃO

Os resultados observados neste trabalho permitem afirmar que a amêndoa de pequi é uma matriz vegetal que possui grandes teores lipídicos e proteicos. Dentre as condições de SFE para obtenção do óleo da amêndoa de pequi, a pressão de 35 MPa e a temperatura 40 °C, que resultam na maior densidade de CO₂, se destacaram. Maiores temperaturas e densidades do CO₂ contribuem para o aumento da solubilidade de compostos no solvente. Isto exerceu influência na composição dos extratos, na qual notou-se que a menor pressão e maiores temperaturas contribuíram para a obtenção de tocoferóis, e o aumento da densidade do solvente proporcionou maiores rendimentos de extração e concentração de tocotrienóis e carotenoides totais. Para a composição de glicerídeos, triacilgliceróis, perfil de ácidos graxos e curvas de fusão e cristalização, não foram observadas grandes diferenças entre as condições de extração.

Dentre as condições de PLE, o uso de misturas de etanol com 50 e 75% em água e temperaturas mais altas, como 85 e 110 °C, se mostraram mais eficientes. As melhores condições para a extração do ácido elágico por PLE foram a 85 e 110 °C com 75% de etanol em água. Para a obtenção de fenólicos totais e capacidade antioxidante por ORAC, as melhores condições foram 110 °C e 50 ou 75% de etanol em água e 110 °C com 75% de etanol em água, respectivamente. Para a capacidade antioxidante FRAP não houve diferença significativa entre as condições de PLE. Além disso, foi identificado o ácido elágico nos extratos obtidos por PLE com maiores teores de fenólicos, sendo que as maiores concentrações de ácido elágico foram obtidas a 110 °C e 50 ou 75% de etanol em água.

Com base nos resultados, pode-se concluir que a amêndoa de pequi apresenta grande potencial nutricional e tecnológico para a aplicação em alimentos funcionais e outros produtos industriais. Além disso, a SFE e a PLE são boas alternativas para extração do óleo e de outros compostos de interesse nesta matriz vegetal.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC, Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 8th ed., vol 2. St. Paul, Minn. **The American Association of Cereal Chemists**, 1990.
- AGOSTONI, C.; MORENO, L.; SHAMIR, R. Palmitic acid and health: Introduction. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 56, n. 12, p. 1941-1942, 2016.
- AGREGÁN, R.; POPOVA, T.; LÓPEZ-PEDROUSO, M.; CANTALAPIEDRA, J.; LORENZO, J. M.; FRANCO, D. Fatty acids. **Food Lipids**. Academic Press, 2022. p. 257-286.
- AHANGARI, H.; KING, J. W.; EHSANI, A.; YOUSEFI, M. Supercritical fluid extraction of seed oils – A short review of current trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 111, maio 2021.
- ALASALVAR, C.; BOLLING, B. W. Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. S2, p. S68-S78, 2015.
- ALVES, A. M.; FERNANDES, D. C.; SOUSA, A. G. D. O.; NAVES, R. V.; NAVES, M. M. V. Características físicas e nutricionais de pequis oriundos dos estados de Tocantins, Goiás e Minas Gerais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 198–203, set. 2014.
- ANDREU, V.; PICÓ, Y. Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 118, p. 709-721, set. 2019.
- ANSOLIN, M.; DE SOUZA, P. T.; DE ALMEIDA MEIRELLES, A. J.; BATISTA, E. A. C. Tocopherols and tocotrienols: an adapted methodology by UHPLC/MS without sample pretreatment steps. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 7, p. 2165-2174, 2017.
- AOCS, **Official Methods and Recommended Practices of The American Oil Chemists Society**. American Oil Society, Champaign, IL, 2009.
- AOCS. **Official Methods and Recommended Practices of The American Oil Chemists Society**. 4ª ed. Champaign, IL: AOCS Press. 1993.
- AOAC, I. **Official methods of analysis**. 16ª ed., 3ª rev. Gaithersburg: Published by AOAC International, v.2, cap. 32, p.1-43, 1997.

ARAÚJO, A. C. M. A.; MENEZES, E. G. T.; TERRA, A. W. C.; DIAS, B. O.; OLIVEIRA, É. R. D.; QUEIROZ, F. Bioactive compounds and chemical composition of Brazilian Cerrado fruits wastes: Pequi almonds, murici, and sweet passionfruit seeds. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 203–214, 1 dez. 2018.

ARRUDA, H. S.; NERI-NUMA, I. A.; KIDO, L. A.; JÚNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases. **Journal of Functional Foods**, v. 75, p. 104203, 2020.

AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, n. 3–4, p. 385–396, 1 jun. 2004.

BARRALES, F. M.; SILVEIRA, P.; BARBOSA, P. D. P. M.; RUVIARO, A. R.; PAULINO, B. N.; PASTORE, G. M.; MACEDO, G. A.; MARTINEZ, J. 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, 2018.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: the FRAP assay. **Anal. Biochem.** 239, 70–76. 1996.

BERMEJO, D. V.; IBÁÑEZ, E.; REGLERO, G.; TURNER, C.; FORNARI, T.; RODRIGUEZ-MEIZOSO, I. High catechins/low caffeine powder from green tea leaves by pressurized liquid extraction and supercritical antisolvent precipitation. **Separation and Purification Technology**, v. 148, p. 49–56, 25 jun. 2015.

BHUYAN, D. J.; BASU, A. Phenolic compounds potential health benefits and toxicity. In: **Utilisation of bioactive compounds from agricultural and food waste**. CRC Press, 2017. p. 27-59.

BRAGA, K. M.; ARAUJO, E. G.; SELLKE, F. W.; ABID, M. R. Pequi fruit extract increases antioxidant enzymes and reduces oxidants in human coronary artery endothelial cells. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 474, 2022.

BRITTON, G., LAAEN-JENSEN, S., PFANDER, H. (2004). *Carotenoids Handbook* Basel: Birkhauser Verlag. 562p.

BULLÓ, M.; JUANOLA-FALGARONA, M.; HERNÁNDEZ-ALONSO, P.; SALAS-SALVADÓ, J. Nutrition attributes and health effects of pistachio nuts. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. S2, p. S79-S93, 2015.

CALVO-FLORES, F. G.; MONTEAGUDO-ARREBOLA, M. J.; DOBADO, J. A.; ISAC-GARCÍA, J. Green and bio-based solvents. **Topics in Current Chemistry**, v. 376, n. 3, p. 1-40, 2018.

CAMPONE, L.; PICCINELLI, A. L.; ALIBERTI, L.; RASTRELLI, L. Application of pressurized liquid extraction in the analysis of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in nuts. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 21, p. 3837-3844, 2009.

CARABIAS-MARTÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ-GONZALO, E.; REVILLA-RUIZ, P.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1089, n. 1-2, p. 1-17, 30 set. 2005.

CARRAZZA, L. R.; J. C. C. D'ÁVILA. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto do Pequi (*Caryocar brasiliense*)**. 2. ed. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2010. 52 p.

CASAL, S.; MALHEIRO, R.; SENDAS, A.; OLIVEIRA, B. P.; PEREIRA, J. A. Olive oil stability under deep-frying conditions. **Food and chemical toxicology**, v. 48, n. 10, p. 2972-2979, 2010.

CASTEJÓN, N.; LUNA, P.; SEÑORÁNS, F. J. Ultrasonic Removal of Mucilage for Pressurized Liquid Extraction of Omega-3 Rich Oil from Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 12, p. 2572-2579, 29 mar. 2017.

CHAÑI-PAUCAR, L. O.; OSORIO-TOBÓN, J. F.; JOHNER, J. C.; MEIRELES, M. A. A. A comparative and economic study of the extraction of oil from Baru (*Dipteryx alata*) seeds by supercritical CO₂ with and without mechanical pressing. **Heliyon**, v. 7, n. 1, 1 jan. 2021.

CHEN, L.; CHEN, N.; HE, Q.; SUN, Q.; GAO, M. R.; ZENG, W. C. Effects of different phenolic compounds on the interfacial behaviour of casein and the action mechanism. **Food Research International**, v. 162, p. 112110, 2022.

CHEN, W.; LIU, Y.; SONG, L.; SOMMERFELD, M.; HU, Q. Automated accelerated solvent extraction method for total lipid analysis of microalgae. **Algal Research**, v. 51, p. 102080, 1 out. 2020.

CHEUNG, M.; ROBINSON, J. A.; PHILLIP, G.; PEGG, R. B. Evaluating the phenolic composition and antioxidant properties of Georgia pecans after in vitro digestion. **Food Bioscience**, p. 102351, 2023.

CHEYNIER, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochemistry reviews**, v. 11, n. 2, p. 153-177, 2012.

CHISTÉ, R. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification, by HPLC-DAD-MS/MS, of carotenoids and phenolic compounds from the Amazonian fruit *Caryocar villosum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5884-5892, 2012.

CLARK, J. H.; FARMER, T. J.; HUNT, A. J.; SHERWOOD, J. Opportunities for Bio-Based Solvents Created as Petrochemical and Fuel Products Transition towards Renewable Resources. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 8, p. 17101–17159, 28 jul. 2015.

CORNELIO-SANTIGO, H. P. **Extração de óleos ricos em ômega-3, -6 ou -9 da amêndoa de castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), Pequi (*Caryocar brasiliensis*) e Sacha Inchi (*Plukenetia huayllabambana* sp. nov.) usando fluidos pressurizados**. 2019. 192 f. Tese de Doutorado- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

CORNELIO-SANTIAGO, H. P.; BODINI, R. B.; MAZALLI, M. R.; GONÇALVES, C. B.; RODRIGUES, C. E.; DE OLIVEIRA, A. L. Oil extraction from pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) and sacha inchi (*Plukenetia huayllabambana* sp. Nov.) almonds by pressurized liquid with intermittent purge: The effects of variables on oil yield and composition. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 182, p. 105527, 2022.

CORNELIO-SANTIAGO, H. P.; GONÇALVES, B. C.; DE OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, A. L. Supercritical CO₂ extraction of oil from green coffee beans: Solubility, triacylglycerol composition, thermophysical properties and thermodynamic modeling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 386-394, 2017.

CUNHA, L. M. S.; PIRES, R. F.; DOS SANTOS, K. G.; DANTAS, S. C. Comparação do rendimento por diferentes métodos de extração de óleo da polpa de pequi. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, 16 maio 2020.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K., L.; FENEMMA, O., R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DANTAS, J. I. A.; PONTES, C. A.; LEITE, G. A.; DE OLIVEIRA FERNANDES, P. L.; DE SOUZA FREITAS, W. E.; DE CARVALHO, C. A. C. Biossíntese de vitaminas em frutos e hortaliças. **Agropecuária científica no semiárido**, v. 8, n. 4, p. 22-37, 2012.

DA SILVA, L. C.; VIGANÓ, J.; SANCHES, V. L.; MESQUITA, L. M. D. S.; PIZANI, R.; ROSTAGNO, M. A. Simultaneous extraction and analysis of apple pomace by gradient pressurized liquid extraction coupled in-line with solid-phase extraction and on-line with HPLC. **Food Chemistry**, v. 407, p. 135117, 2023.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 52(1), 48–54, 2004.

DE AGUIAR, A. C.; DA FONSECA, A. P. M.; ANGOLINI, C. F. F.; DE MORAIS, D. R.; BASEGGIO, A. M.; EBERLIN, M. N.; JUNIOR, M. R. M.; MARTINEZ, J. Sequential high-pressure extraction to obtain capsinoids and phenolic compounds from biquinho pepper (*Capsicum chinense*). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 150, p. 112-121, 2019.

DE ARAUJO, F. D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae)—an economically valuable species of the central Brazilian cerrados. **Economic Botany**, v. 49, n. 1, p. 40-48, 1995

DELGADO-ZAMARREÑO, M. M.; BUSTAMANTE-RANGEL, M.; MARTINEZ-PELARDA, D.; CARABIAS-MARTINEZ, R. Analysis of β -sitosterol in seeds and nuts using pressurized liquid extraction and liquid chromatography. **Analytical Sciences**, v. 25, n. 6, p. 765-768, 2009.

DE MELLO, B. T. F.; STEVANATO, N.; CARDOZO FILHO, L.; DA SILVA, C. Pressurized liquid extraction of radish seed oil using ethanol as solvent: Effect of pretreatment on seeds and process variables. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 176, p. 105307, out. 2021.

DIAS, R.; OLIVEIRA, H.; FERNANDES, I.; SIMAL-GANDARA, J.; PEREZ-GREGORIO, R. Recent advances in extracting phenolic compounds from food and their use in disease prevention and as cosmetics. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 61, n. 7, p. 1130-1151, 2021.

DOBARGANES, M. C.; VELASCO, J.; DIEFFENBACHER, A. Determination of polar compounds, polymerized and oxidized triacylglycerols, and diacylglycerols in oils and fats: results of collaborative studies and the standardized method (Technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1563-1575, 2000.

DRON, A.; GUYERU, D. E.; GAGE, D. A.; LIRA, C. T. Yield and quality of onion flavor oil obtained by supercritical fluid extraction and other methods. **Journal of Food Process Engineering**, v. 20, n. 2, p. 107–124, maio 1997.

EGGERSDORFER, M.; WYSS, A. Carotenoids in human nutrition and health. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 652, p. 18-26, 2018.

ESFANDIARI, N. Production of micro and nano particles of pharmaceutical by supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 100, p. 129–141, 1 maio 2015.

FITZPATRICK, L. J.; ZULOAGA, O.; ETXEBARRIA, N.; DEAN, J. R. Environmental Applications of Pressurised Fluid Extraction. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 19, n. 2, p. 75-122, jan. 2000.

FREITAS, L. D. S.; JACQUES, R. A.; RICHTER, M. F.; DA SILVA, A. L.; CARAMÃO, E. B. Pressurized liquid extraction of vitamin E from Brazilian grape seed oil. **Journal of Chromatography A**, v. 1200, n. 1, p. 80–83, jul. 2008.

GALLEGO, R.; BUENO, M.; HERRERO, M. Sub- and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plants, food-by-products, seaweeds and microalgae – An update. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, p. 198-213, 1 jul. 2019.

GARCÍA-GONZÁLEZ, D. L.; APARICIO-RUIZ, R.; APARICIO, R. Virgin olive oil-Chemical implications on quality and health. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, n. 7, p. 602-607, 2008.

GARCIA-MENDOZA, M. D. P. **Aproveitamento do resíduo agroindustrial de juçara (*Euterpe edulis* Mart.): um estudo de diferentes técnicas de extração de compostos fenólicos e antocianinas usando altas pressões**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP: [s.n.], 2016.

GONÇALVES, MARIA ÁSSIMA BITTAR. Extração de polpa e óleo de pequi em escala industrial. BR P10506310-8 A-2. Depósito em 29 de novembro de 2005.

GONÇALVES, S.; ROMANO, A. Chapter 4- Application of supercritical CO₂ for enhanced oil recovery. **Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science**. Elsevier, 2020. p. 67-84.

GOTO, M.; SATO, M.; HIROSE, T. Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids from carrots. **Developments in Food Engineering: Proceedings of the 6th International Congress on Engineering and Food**. Springer US, 1994. p. 835-837.

GUARIENTI, E. P.; PINHEIRO, E.; GODOY, L. P.; EVANGELISTA, M. L. S.; LOVATO, A. Perdas de matéria-prima: um estudo de caso na indústria de óleo de soja. **Engevista**, v. 14, n. 1. p. 58-73, abr. 2012.

GUEDES, A. M. M.; ANTONIASSI, R.; GALDEANO, M. C.; GRIMALDI, R.; DE CARVALHO, M. G.; WILHELM, A. E.; MARANGONI, A. G. Length-scale specific crystalline structural changes induced by molecular randomization of pequi oil. **Journal of Oleo Science**, v. 66, n. 5, p. 469–478, 2017.

GURR, M. I. The chemistry and biochemistry of plants fats and their nutritional importance. In: J. Wiseman (ed.) **Fats in animal nutrition**. Butterworths, London, p. 3-22, 1984.

HARTMAN, L.; LAGO, R. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practices**, v. 22, p. 475-476, 1973.

HERRERO, M.; CASTRO-PUYANA, M.; MENDIOLA, J. A.; IBAÑEZ, E. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, fev. 2013.

HEWAVITHARANA, G. G.; PERERA, D. N.; NAVARATNE, S. B.; WICKRAMASINGHE, I. Extraction methods of fat from food samples and preparation of fatty acid methyl esters for gas chromatography: A review. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 8, p. 6865-6875, 2020.

IBAÑEZ, E.; HERRERO, M.; MENDIOLA, J. A.; CASTRO-PUYANA, M. Extraction and characterization of bioactive compounds with health benefits from marine resources: macro and micro algae, cyanobacteria, and invertebrates. In: **Marine Bioactive Compounds: Sources, Characterization and Applications**. Springer, Boston, MA, 2012. p. 55-98.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura 2021. Disponível em:< https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/74/pevs_2020_v35_informativo.pdf >. Acessado em 22 de nov.de 2021.

IBGE. SIDRA, Sistema IBGE de recuperação automática. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura de 2023. Disponível em:<<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2020>>. Acessado em 6 de jan.de 2023.

INDELICATO, S.; BONGIORNO, D.; PITONZO, R.; DI STEFANO, V.; CALABRESE, V.; INDELICATO, S.; AVELLONE, G. Triacylglycerols in edible oils: Determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations. **Journal of Chromatography a**, v. 1515, p. 1-16, 2017.

ISHAK, I.; HUSSAIN, N.; COOREY, R.; ABD GHANI, M. Optimization and characterization of chia seed (*Salvia hispanica* L.) oil extraction using supercritical carbon dioxide. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 45, p. 101430, 1 mar. 2021.

IVANOV, D. S.; LEVIĆ, J. D.; SREDANOVIĆ, S. A. Fatty acid composition of various soybean products. **Food and Feed Research**, v. 37, n. 2, p. 65-70-65-70, 2010.

IVY, D.; NAJJAR, R.; MEISTER, M.; NAVES, M. M.; FERESIN, R. Evaluation of Phenolic and Flavonoid Content, Antioxidant and Radical Scavenging Capacity of Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Almond. **Current Developments in Nutrition**, v. 5, n. Supplement_2, p. 326-326, 2021.

JAIN, P.; SINGH, I.; SURANA, S. J.; SHIRKHEDKAR, A. A. Tocopherols and tocotrienols: the essential vitamin E. **Bioactive Food Components Activity in Mechanistic Approach**. Academic Press, 2022. p. 139-154.

JOKIĆ, S.; ZEKOVIĆ, Z.; VIDOVIĆ, S.; SUDAR, R.; NEMET, I.; BILIĆ, M.; VELIĆ, D. Supercritical CO₂ extraction of soybean oil: process optimisation and triacylglycerol composition. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 9, p. 1939-1946, 2010.

JOHNER, J. C. F.; HATAMI, T.; MEIRELES, M. A. A. Developing a supercritical fluid extraction method assisted by cold pressing for extraction of pequi (*Caryocar brasiliense*). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 137, p. 34–39, 1 jul. 2018.

JOHNSON, E. J. A possible role for lutein and zeaxanthin in cognitive function in the elderly. **The American journal of clinical nutrition**, v. 96, n. 5, p. 1161S-1165S, 2012.

KENAR, J., A.; MOSER, B., R.; LIST, G., R. Naturally occurring fatty acids: Source, chemistry, and uses. **Fatty acids**. AOCS Press, 2017. p. 23-82.

KHAW, K. Y.; PARAT, M. O.; SHAW, P. N.; FALCONER, J. R. Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: A review. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1186, 1 jul. 2017.

LACHMAN, J.; HEJTMÁNKOVÁ, A.; ORSÁK, M.; POPOV, M.; MARTINEK, P. Tocotrienols and tocopherols in colored-grain wheat, tritordeum and barley. **Food chemistry**, v. 240, p. 725-735, 2018.

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, jun. 2017.

LEPOJEVIĆ, I.; LEPOJEVIĆ, Ž.; PAVLIĆ, B.; RISTIĆ, M.; ZEKOVIĆ, Z.; VIDOVIĆ, S. Solid-liquid and high-pressure (liquid and supercritical carbon dioxide) extraction of *Echinacea purpurea* L. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 159–168, 1 jan. 2017.

LEYVA-PORRAS, C.; CRUZ-ALCANTAR, P.; ESPINOSA-SOLÍS, V.; MARTÍNEZ-GUERRA, E.; PIÑÓN-BALDERRAMA, C. I.; COMPEAN MARTÍNEZ, I.; SAAVEDRA-LEOS, M. Z. Application of differential scanning calorimetry (DSC) and modulated differential scanning calorimetry (MDSC) in food and drug industries. **Polymers**, v. 12, n. 1, p. 5, 2019.

LIMA, A. D.; SILVA, A. M. D. O.; TRINDADE, R. A.; TORRES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695–698, set. 2007.

LIMA, J. R.; SOUZA, A. C. R. D.; MAGALHÃES, H. C. R.; PINTO, C. O. Pequi Kernel oil extraction by hydraulic pressing and its characterization. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 42, n. 5, 2020.

LISBOA, M. C.; WILTSHIRE, F. M. S.; FRICKS, A. T.; DARIVA, C.; CARRIÈRE, F.; LIMA, Á. S.; SOARES, C. M. F. Oleochemistry potential from Brazil northeastern exotic plants. **Biochimie**, v. 178, p. 96-104, 8 set. 2020.

LUQUE-GARCIA, J. L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Coupling of pressurized liquid extraction to other steps in environmental analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 2, p. 102–108, fev. 2004.

MACHADO, M. T. C.; MELLO, B. C. B. S.; HUBINGER, M. D. Evaluation of pequi (*Caryocar Brasiliense* Camb.) aqueous extract quality processed by membranes. **Food and Bioproducts Processing**, v. 95, p. 304–312, 2015.

MACIEL, T. C. M.; MARCO, C. A.; SILVA, E. E.; DA SILVA, T. I; DOS SANTOS, H. R.; JÚNIOR, S. D. P. F; ALCANTARA, F. D. D. O. A; CHAVES, M. M. Pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) extrativism: situation and perspectives for its sustainability in Cariri Cearense, Brazil. **Acta Agronómica**, v. 67, n. 2, p. 238–245, 1 abr. 2018.

MAOKA, Takashi. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of Natural Medicines**, v. 74, n. 1, p. 1-16, 2020.

MARTINS, C. M.; GUEDES, J. A. C.; DE BRITO, E. S.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of tamarind seeds using high-pressure extraction methods to obtain rich fractions in fatty acid and phenolic compounds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 183, p. 105556, 2022.

MARTINS, J. P. G.; SETTER, C.; ATAÍDE, C. H.; DE OLIVEIRA, T. J. P.; MAGRIOTIS, Z. M. Study of pequi peel pyrolysis: Thermal decomposition analysis and product characterization. **Biomass and Bioenergy**, v. 149, jun. 2021.

MATEOS, R.; TRUJILLO, M.; PÉREZ-CAMINO, M. C.; MOREDA, W.; CERT, A. Relationships between oxidative stability, triacylglycerol composition, and antioxidant content in olive oil matrices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 14, p. 5766-5771, 2005.

MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001–2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 7, n. 4-5, p. 321-330, 2003.

MELINA, V.; CRAIG, W.; LEVIN, S. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Vegetarian Diets. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 116, n. 12, p. 1970–1980, 1 dez. 2016.

MILLAO, S.; UQUICHE, E. Extraction of oil and carotenoids from pelletized microalgae using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 223–231, 1 out. 2016.

MILANI, A.; BASIRNEJAD, M.; SHAHBAZI, S.; BOLHASSANI, A. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 11, p. 1290-1324, 2017.

MOURA, N. F.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Caracterização física de frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) do cerrado. **Revista Árvore**, v. 37, n. 5, p. 905–912, out. 2013.

MU, J.; WU, G.; CHEN, Z.; BRENNAN, C. S.; TRAN, K.; DILRUKSHI, H. N. N.; CHENGMING, S.; ZHEN, H.; HUI, X. Identification of the fatty acids profiles in supercritical CO₂ fluid and Soxhlet extraction of Samara oil from different cultivars of *Elaeagnus mollis* Diels seeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 101, ago. 2021.

MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8-18, 2011.

NAGY, K.; TIUCA, I. Importance of fatty acids in physiopathology of human body. **Fatty acids**. IntechOpen, 2017.

NARDINI, M. Phenolic compounds in food: Characterization and health benefits. **Molecules**, v. 27, n. 3, p. 783, 2022.

NG, M. H.; KUSHAIRI, A. The effect of pressure and solvent on the supercritical fluid chromatography separation of tocol analogs in palm oil. **Molecules**, v. 22, n. 9, p. 1424, 2017.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R. DO; NAVES, M. M. V. Potential of Whole Pequi (*Caryocar spp.*) Fruit-Pulp, Almond, Oil, and Shell-as a Medicinal Food. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, n. 9, p. 952–962, 1 set. 2019.

NIETO, A.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R. M. Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 7, p. 752–764, 1 jul. 2010.

NODAR, M. D.; GOMEZ, A. M.; MARTINEZ, DE LA OSSA, E. M. Characterisation and Process Development of Supercritical Fluid Extraction of Soybean Oil. **Food Science and Technology International**, v. 8, n. 6, 1 dez. 2002.

OLIVEIRA, J. T.; DA COSTA, F. M.; DA SILVA, T. G.; SIMÕES, G. D.; PEREIRA, E. D. S.; DA COSTA, P. Q.; ANDREAZZA, R.; SCHENKEL, P. C.; PIENIZ, S. Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential. **Food Chemistry**, v. 408, p. 135206, 2023.

OSORIO-TOBÓN, J. F. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, 42994315, 2020.

ÖZKAL, S. G.; SALGIN, U.; YENER, M. E. Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 2, p. 217–223, 1 jul. 2005.

PAGANO, I.; CAMPONE, L.; CELANO, R.; PICCINELLI, A. L.; RASTRELLI, L. Green non-conventional techniques for the extraction of polyphenols from agricultural food by-products: A review. **Journal of Chromatography A**, v. 1651, p. 462295, 2021.

PAIVA, A. P.; BARCELOS, M. D. F. P.; PEREIRA, J. D. A. R.; FERREIRA, E. B.; CIABOTTI, S. Characterization of food bars manufactured with agroindustrial by-products and waste. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, n. 3, p. 333–340, jun. 2012.

PANDYA, J. K.; DEBONEE, M.; CORRADINI, M. G.; CAMIRE, M. E.; MCCLEMENTS, D. J.; KINCHLA, A. J. Development of vitamin E-enriched functional foods: stability of tocotrienols in food systems. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 54, n. 12, p. 3196-3204, 2019.

PARDO, F. A. E. Extração de compostos fenólicos com potencial bioativo a partir de bagaço industrial de laranja seco e biotransformado usando CO₂ supercrítico. Campinas, SP: [s.n.], 2016.

PEREIRA, R. G.; GARCIA, V. L.; RODRIGUES, M. V. N.; MARTÍNEZ, J. 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.

PESSOA, A. S.; PODESTA, R.; BLOCK, J. M.; FRANCESCHI, E.; DARIVA, C.; LANZA, M. Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 101, p. 95–103, 1 jun. 2015.

PICCININ, E.; CARIELLO, M.; DE SANTIS, S.; DUCHEIX, S.; SABBÀ, C.; NTAMBI, J. M.; MOSCHETTA, A. Role of oleic acid in the gut-liver axis: from diet to the regulation of its synthesis via stearoyl-CoA desaturase 1 (SCD1). **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2283, 2019.

PITIPANAPONG, J.; CHITPRASERT, S.; GOTO, M.; JIRATCHARIYAKUL, W.; SASAKI, M.; SHOTIPRUK, A. New approach for extraction of charantin from *Momordica charantia* with pressurized liquid extraction. **Separation and Purification Technology**, v. 52, n. 3, p. 416-422, 2007.

RAI, A.; MOHANTY, B.; BHARGAVA, R. Supercritical extraction of sunflower oil: A central composite design for extraction variables. **Food Chemistry**, v. 192, fev. 2016.

RAPPOPORT, Z. The Chemistry of Phenols. **John Wiley & Sons, Ltd.** (Chapter 1), 2003.

RIBEIRO, D. M.; FERNANDES, D. C.; ALVES, A. M.; NAVES, M. M. V. Carotenoids are related to the colour and lipid content of the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp from the Brazilian Savanna. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 507-512, 2014.

RIBEIRO, E., P.; SERAVALLI, E., A., G. **Química de alimentos**. 2. ed. Blucher, 2003.

RIVERA-MADRID, R.; CARBALLO-UICAB, V. M.; CÁRDENAS-CONEJO, Y.; AGUILAR-ESPINOSA, M.; SIVA, R. Overview of carotenoids and beneficial effects on human health. **Carotenoids: properties, processing and applications**. Academic Press, 2020. p. 1-40.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. Washington: ILSI press, 2001.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53–60, mar. 2007.

- RUIZ-ACEITUNO, L.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, S.; SANZ, J.; SANZ, M. L.; RAMOS, L. Optimization of pressurized liquid extraction of inositols from pine nuts (*Pinus pinea* L.). **Food chemistry**, v. 153, p. 450-456, 2014.
- SÁ, A. G. A.; DA SILVA, D. C.; PACHECO, M. T. B.; MORENO, Y. M. F.; CARCIOFI, B. A. M. Oilseed by-products as plant-based protein sources: Amino acid profile and digestibility. **Future Foods**, v. 3, p. 100023, 1 jun. 2021.
- SAHENA, F.; ZAIDUL, I. S. M.; JINAP, S.; KARIM, A. A.; ABBAS, K. A.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 240–253, 1 nov. 2009.
- SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, v. 76, p. 735-750, 2015.
- SALSINHA, A. S; SOCODATO, R.; RELVAS, J. B.; PINTADO, M. **Chapter 3 - The pro- and antiinflammatory activity of fatty acids**. Bioactive Lipids. Academic Press, 2023. p. 51-75.
- SANCHEZ-CAMARGO, A. D. P.; MENDIOLA, J. A.; IBÁÑEZ, E.; HERRERO, M. Supercritical fluid extraction. Módulo Chem. Mol. ciência Chem. Eng., Elsevier, 2014.
- SANTANA, J. D. G; NAVES, R. V. Caracterização de ambientes de Cerrado com alta densidade de pequizeiros (*Caryocar brasiliense* Camb.) na região sudeste do estado de Goiás. **Revista Árvore**, v.37, n.5, p.905-912, 3 set. 2003.
- SANTANA, Á. L.; QUEIRÓS, L. D.; MARTÍNEZ, J.; MACEDO, G. A. Pressurized liquid- and supercritical fluid extraction of crude and waste seeds of guarana (*Paullinia cupana*): Obtaining of bioactive compounds and mathematical modeling. **Food and Bioproducts Processing**, v. 117, p. 194-202, set. 2019.
- SANTOS, O. V.; CORRÊA, N. C. F.; CARVALHO JR, R. N.; COSTA, C. E. F.; LANNES, S. C. S. Yield, nutritional quality, and thermal-oxidative stability of Brazil nut oil (*Bertolletia excelsa* H.B.K) obtained by supercritical extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 499–504, 1 ago. 2013.

SHAHIDI, F.; DE CAMARGO, A. Co. Tocopherols and tocotrienols in common and emerging dietary sources: Occurrence, applications, and health benefits. **International journal of molecular Sciences**, v. 17, n. 10, p. 1745, 2016.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **In L. Packer**, 1999.

SMEDES, F.; K ASKLAND, T. Revisiting the development of the Bligh and Dyer total lipid determination method. **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, n. 3, p. 193-201, 1999.

SMERIGLIO, A.; D'ANGELO, V.; DENARO, M.; TROMBETTA, D.; GERMANÒ, M. P. The hull of ripe pistachio nuts (*Pistacia vera* L.) as a source of new promising melanogenesis inhibitors. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 76, n. 1, p. 111-117, 2021.

SOGI, D. S.; SIDDIQ, M.; DOLAN, K. D. Total phenolics, carotenoids and antioxidant properties of Tommy Atkin mango cubes as affected by drying techniques. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 564-568, 2015.

SOHNI, S.; HASHIM, R.; NIDAULLAH, H.; SULAIMAN, O.; LEH, C. P.; LAMAMING, J.; ARAI, T.; KOSUGI, A. Enhancing the enzymatic digestibility of oil palm biomass using supercritical carbon dioxide-based pretreatment towards biorefinery application. **Industrial Crops and Products**, v. 157, p. 112923, 1 dez. 2020.

SOUSA, A. G. D. O.; FERNANDES, D. C.; ALVES, A. M., DE FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2319–2325, ago. 2011.

SOUSA, A. D.; MAIA, A. I. V.; RODRIGUES, T. H. S.; CANUTO, K. M.; RIBEIRO, P. R. V.; PEREIRA, R. D. C. A.; VIEIRA, F. R; DE BRITO, E. S. Ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from *Phyllanthus amarus* and its composition evaluation by UPLC-QTOF. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 91–103, 1 jan. 2016.

SPITZER, V.; MAGGINI, S. Phytosterols and Micronutrients for Heart Health. **Bioactive Food as Dietary Interventions for Cardiovascular Disease**. Elsevier, 2013. p. 393–413.

SUN, Q.; SHI, J.; SCANLON, M.; XUE, S. J.; LU, J. Optimization of supercritical- CO₂ process for extraction of tocopherol-rich oil from canola seeds. **LWT**, v. 145, p. 111435, 1 jun. 2021.

TAN, C. P.; CHE MAN, Y. B. Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: comparison of thermal properties and chemical composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 2, p. 143-155, 2000.

TAYLOR, L. T. **Supercritical Fluid Extraction**. New York: Wiley-Interscience, 1996. Vol. 4.

TIWARI, S.; YAWALE, P.; UPADHYAY, N. Carotenoids: Extraction strategies and potential applications for valorization of under-utilized waste biomass. **Food Bioscience**, v. 48, p. 101812, 2022.

TORRES, L. R. O.; SHINAGAWA, F. B.; ARAÚJO, E. S.; OROPEZA, M. V. C.; MACEDO, L. F. L.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B.; DE LIMA, H. C.; MANCINI-FILHO, J. Physicochemical and antioxidant properties of the pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil obtained by handmade and cold-pressed processes. **Embrapa Cerrados-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2016.

TRIPODO, G.; IIBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A.; GILBERT-LOPEZ, B.; FANALI, C. Optimization of pressurized liquid extraction by response surface methodology of Goji berry (*Lycium barbarum* L.) phenolic bioactive compounds. **Eletrophoresis**, v. 39, p. 1673–1682, 2018.

TURA, M.; MANDRIOLI, M.; VALLI, E.; TOSCHI, T. G. Quality indexes and composition of 13 commercial hemp seed oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 117, p.105112, 2023.

VAZQUEZ-ROIG, P.; PICÓ, Y. Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, pg. 55-64, set. 2015.

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.

VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o Futuro- Região Centro-Oeste**. Brasília, DF: MMA, 2016. 1162 p.

VIGANÓ, J.; AGUIAR, A. C.; MORAES, D. R.; JARA, J. L.; EBERLIN, M. N.; CAZARIN, C. B.; JUNIOR, M. R. M.; MARTÍNEZ, J. Sequential high pressure extractions applied to recover piceatannol and scirpusin B from passion fruit bagasse. **Food Research International**, v. 85, p. 51–58, 1 jul. 2016a.

VIGANÓ, J.; COUTINHO, J. P.; SOUZA, D. S.; BARONI, N. A. F.; GODOY, H. T.; MACEDO, J. A.; MARTÍNEZ, J. Exploring the Selectivity of Supercritical CO₂ to Obtain Nonpolar Fractions of Passion Fruit Bagasse Extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, 110:1–10, 2016b.

VIGANÓ, J.; DE AGUIAR, A. C.; VEGGI, P. C.; SANCHES, V. L.; ROSTAGNO, M. A.; MARTÍNEZ, J. Techno-economic evaluation for recovering phenolic compounds from acai (*Euterpe oleracea*) by-product by pressurized liquid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 179, p. 105413, 2021.

VIGANÓ, J.; MEIRELLES, A. A.; NÁTHIA-NEVES, G.; BASEGGIO, A. M.; CUNHA, R. L.; JUNIOR, M. R. M.; MEIRELES, M. A. A.; GURIKOV, P.; SMIRNOVA, I.; MARTÍNEZ, J. Impregnation of passion fruit bagasse extract in alginate aerogel microparticles. **International journal of biological macromolecules**, v. 155, p. 1060-1068, 2020.

XIE, G.; XU, X.; LEI, X.; LI, Z.; LI, Y.; SUNDEN, B. Heat transfer behaviors of some supercritical fluids: A review. **Chinese Journal of Aeronautics**, jan. 2021.

ZABOT, G. L.; MORAES, M. N.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. Influence of the bed geometry on the kinetics of the extraction of clove bud oil with supercritical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 93, p. 56-66, 2014.

ZABOT, G. L.; MORAES, M. N.; MEIRELES, M. A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from botanic matrices: experimental data, process parameters and economic evaluation. **Recent Patents on Engineering**, v. 6, n. 3, p. 182-206, 2012.

ZAMUZ, S.; PATEIRO, M.; CONTE-JUNIOR, C. A.; DOMÍNGUEZ, R.; NAWAZ, A.; WALAYAT, N.; LORENZO, J. M. **Chapter 8 - Fat and fatty acids**. Food Lipids. Academic Press, p. 155-172, 2022.

ZHANG, Y.; LI, Y.; REN, X.; ZHANG, X.; WU, Z.; LIU, L. The positive correlation of antioxidant activity and prebiotic effect about oat phenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 402, p. 134231, 2023.

ZULKAFI, Z. D.; WANG, H.; MIYASHITA, F.; UTSUMI, N.; TAMURA, K. Cosolvent-modified supercritical carbon dioxide extraction of phenolic compounds from bamboo leaves (*Sasa palmata*). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 123–129, 2014.

WAISUNDARA, V., Y. **Introductory Chapter: Fatty Acids in Modern Times**. Biochemistry and Health Benefits of Fatty Acids. IntechOpen, 2018.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 6, p. 300-312, 2006.

WEI, H; YANG, D.; MAO, J.; ZHANG, Q.; CHENG, L.; YANG, X.; LI, P. Accurate quantification of TAGs to identify adulteration of edible oils by ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 165, p. 112544, 2023.

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Protein and amino acid requirements in human nutrition. **WHO Technical Report Series**, Geneva, n. 935, 2007.

APÊNDICES

I. Apêndice A. Tabelas usadas para a construção de curvas cinéticas.

Tabela 1A. Rendimentos globais médios obtidos na SFE da amêndoa de pequi em diferentes condições de temperatura e pressão.

S/F	Rendimento Global (% , m/m)								
	15 MPa			25 MPa			35 MPa		
	40°C	50°C	60°C	40°C	50°C	60°C	40°C	50°C	60°C
5	0,47	10,95	0,10	2,37	2,40	2,56	3,86	4,34	4,49
10	1,18	15,56	0,40	5,11	6,07	6,57	8,77	10,45	9,11
15	1,93	18,23	1,02	7,67	9,50	10,05	14,25	16,27	12,74
20	2,60	19,47	1,68	9,85	13,50	13,05	19,99	20,37	15,59
30	3,86	20,93	2,53	13,19	20,46	16,95	28,51	24,73	19,97
40	5,19	21,96	3,32	15,89	25,63	20,00	33,60	27,83	22,66
60	7,55	23,70	4,33	20,05	31,90	24,23	39,81	32,88	26,13
80	9,81	25,28	5,06	22,76	35,37	27,75	43,35	36,17	28,80
100	11,73	26,89	5,84	24,95	38,04	30,49	45,09	38,28	31,06

Tabela 2A. Massas médias de extrato obtido na SFE da amêndoa de pequi em diferentes condições de de temperatura e pressão.

S/F	Massa de extrato (g)								
	15 MPa			25 MPa			35 MPa		
	40°C	50°C	60°C	40°C	50°C	60°C	40°C	50°C	60°C
5	0,05	1,10	0,01	0,24	0,23	0,26	0,39	0,43	0,45
10	0,07	0,46	0,03	0,27	0,25	0,40	0,49	0,61	0,46
15	0,08	0,27	0,06	0,26	0,28	0,35	0,55	0,58	0,36
20	0,07	0,12	0,07	0,22	0,32	0,30	0,58	0,41	0,28
30	0,13	0,15	0,08	0,33	0,56	0,39	0,85	0,44	0,44
40	0,13	0,10	0,08	0,27	0,41	0,30	0,51	0,31	0,27
60	0,24	0,17	0,10	0,42	0,46	0,42	0,62	0,51	0,35
80	0,23	0,16	0,07	0,27	0,28	0,35	0,35	0,33	0,27
100	0,19	0,16	0,08	0,22	0,23	0,27	0,20	0,21	0,23

Tabela 3A. Rendimentos globais médios obtidos na PLE da amêndoa de pequi em diferentes condições de temperatura e concentração de etanol.

Tempo	Rendimento Global (% m/m)								
	50 % EtOH			75 % EtOH			100 % EtOH		
	60°C	85°C	110°C	65°C	85°C	110°C	65°C	85°C	110°C
5	11,91	5,92	11,07	11,34	8,58	16,79	5,63	5,71	6,04
10	14,41	6,63	15,24	13,67	11,65	22,12	6,78	7,16	7,44
15	15,25	7,36	17,24	14,75	12,94	24,81	7,27	7,88	8,14
20	15,63	7,80	19,10	15,30	13,66	26,40	7,59	8,26	8,69
30	15,91	8,23	22,32	15,91	14,44	27,98	7,91	8,66	9,75
40	16,18	8,55	25,12	16,20	14,69	29,13	8,19	8,95	10,20
50	16,37	8,85	29,60	16,49	14,91	30,05	8,40	9,16	10,47
60	16,59	9,10	34,72	16,73	15,09	30,79	8,61	9,34	10,75

Tabela 4A. Massas médias de extrato obtido na PLE da amêndoa de pequi em diferentes condições de temperatura e concentração de etanol.

Tempo	Massa de extrato (g)								
	50 % EtOH			75 % EtOH			100 % EtOH		
	60°C	85°C	110°C	65°C	85°C	110°C	65°C	85°C	110°C
5	0,06	0,03	0,06	0,06	0,04	0,08	0,03	0,03	0,03
10	0,01	0,00	0,02	0,01	0,02	0,03	0,01	0,01	0,01
15	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00
20	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
30	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
40	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
50	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
60	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

II. Apêndice B. Curvas isotérmicas e Isobáricas de SFE e PLE

Figura 1B. Isotermas do rendimento global da SFE da amêndoa de pequi.

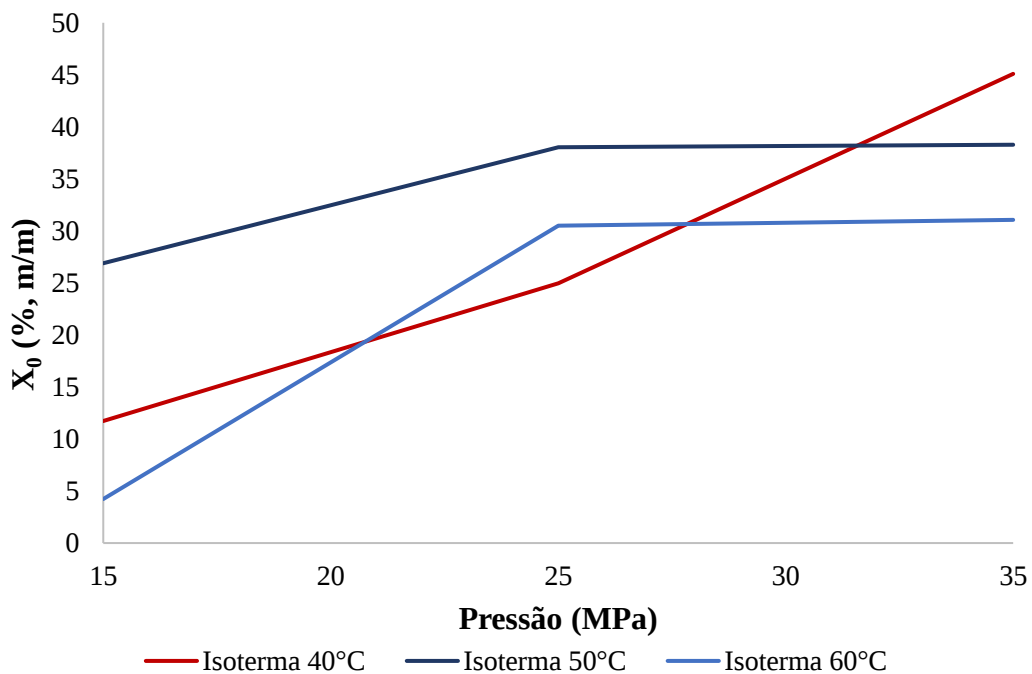


Figura 2B. Isobáricas do rendimento global da SFE da amêndoa de pequi.

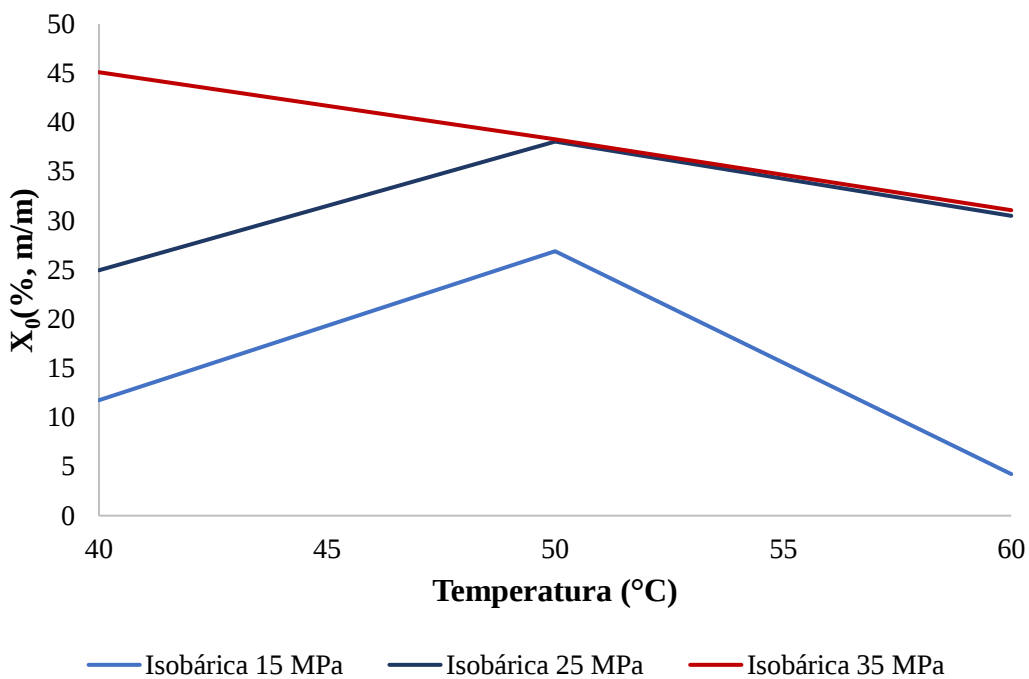


Figura 3B. Isotermas de tocóis totais obtidos por SFE da amêndoa de pequi.

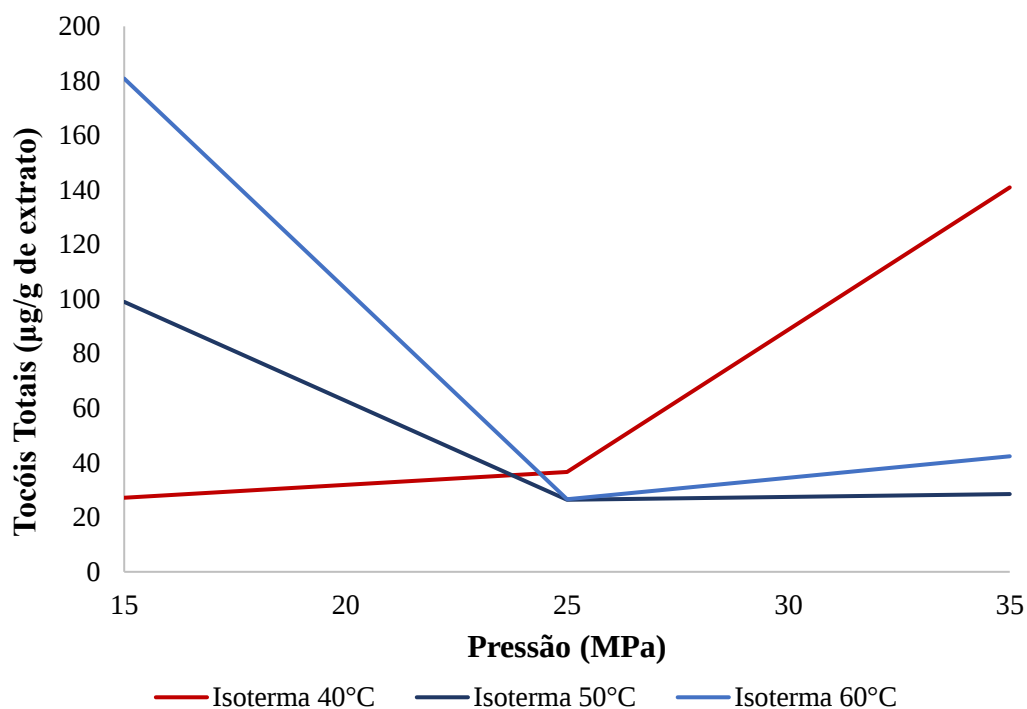


Figura 4B. Isobáricas a 15, 25 e 35 MPa de tocóis totais obtidos por SFE da amêndoa de pequi.

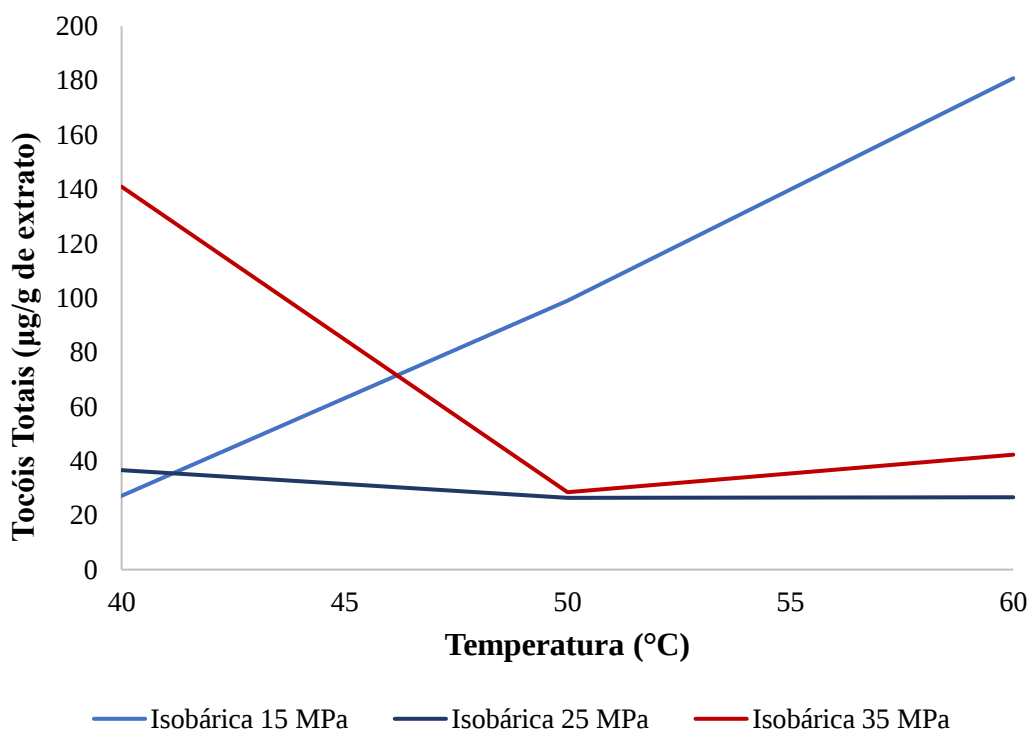


Figura 5B. Isotermas do rendimento global da PLE da amêndoa de pequi desengordurada.

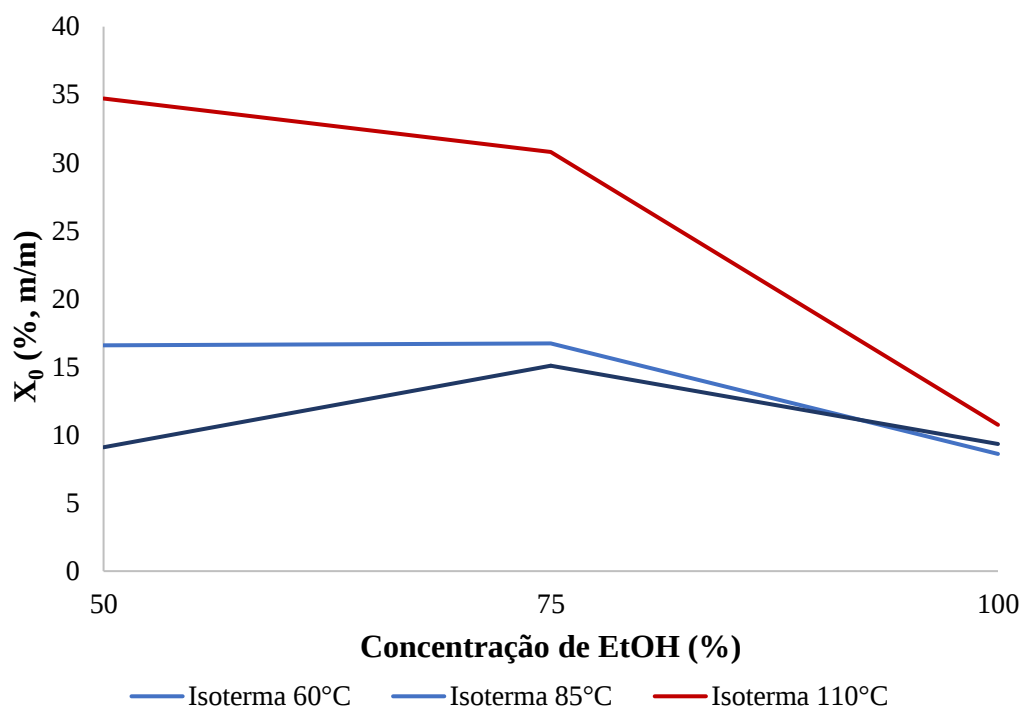
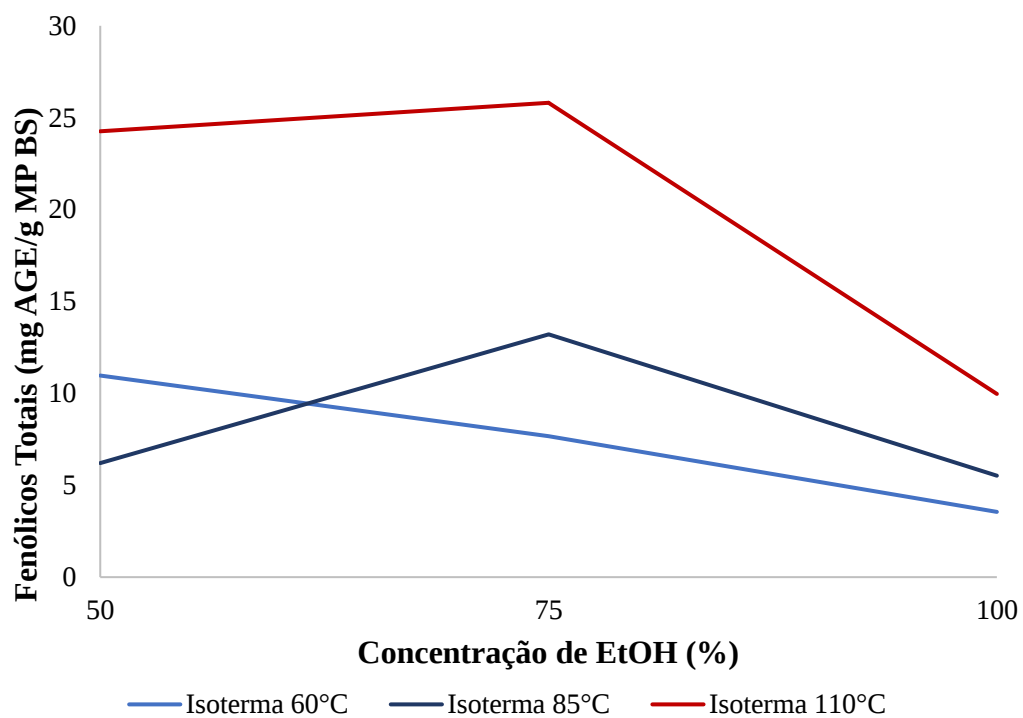


Figura 6B. Isotermas a 60, 85 e 110 °C dos fenólicos totais obtidos por PLE da amêndoa de pequi desengordurada.



III. Apêndice C. Curvas padrão

Figura 1C. Curvas padrão do α -tocoferol

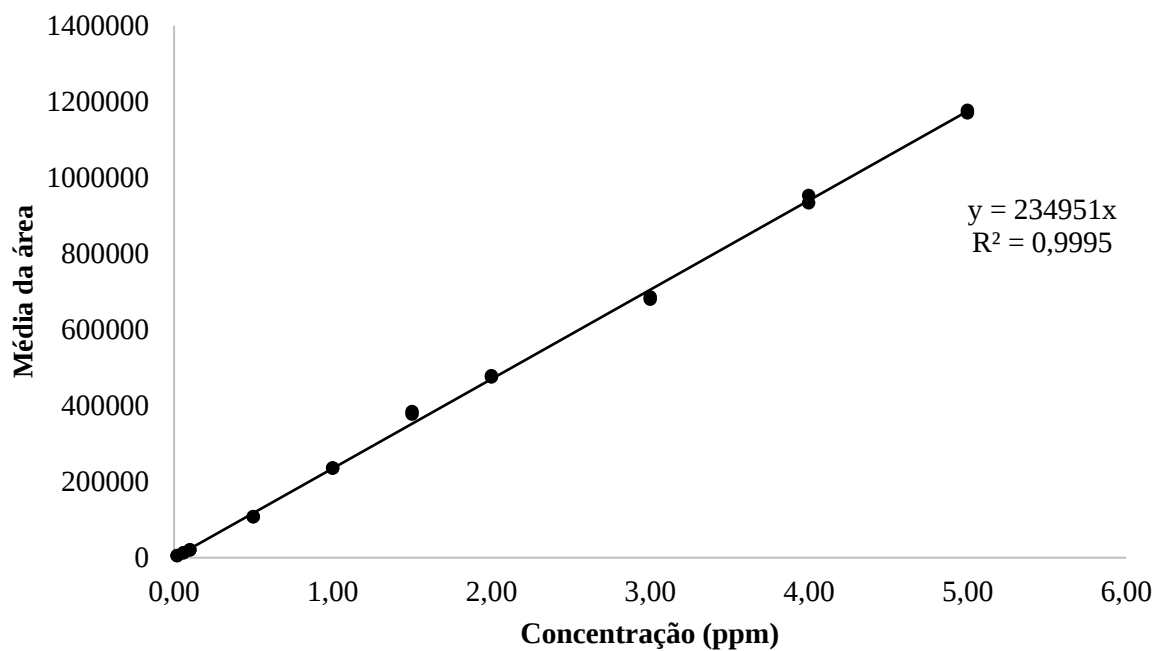


Figura 2C. Curvas padrão do β/γ -tocoferol

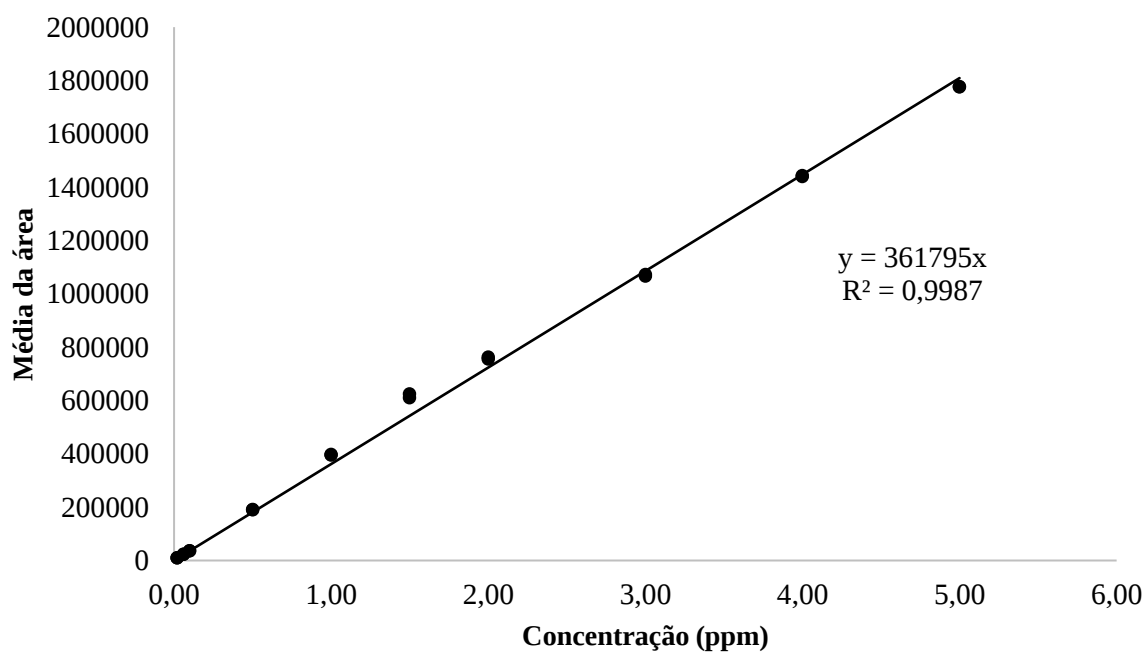


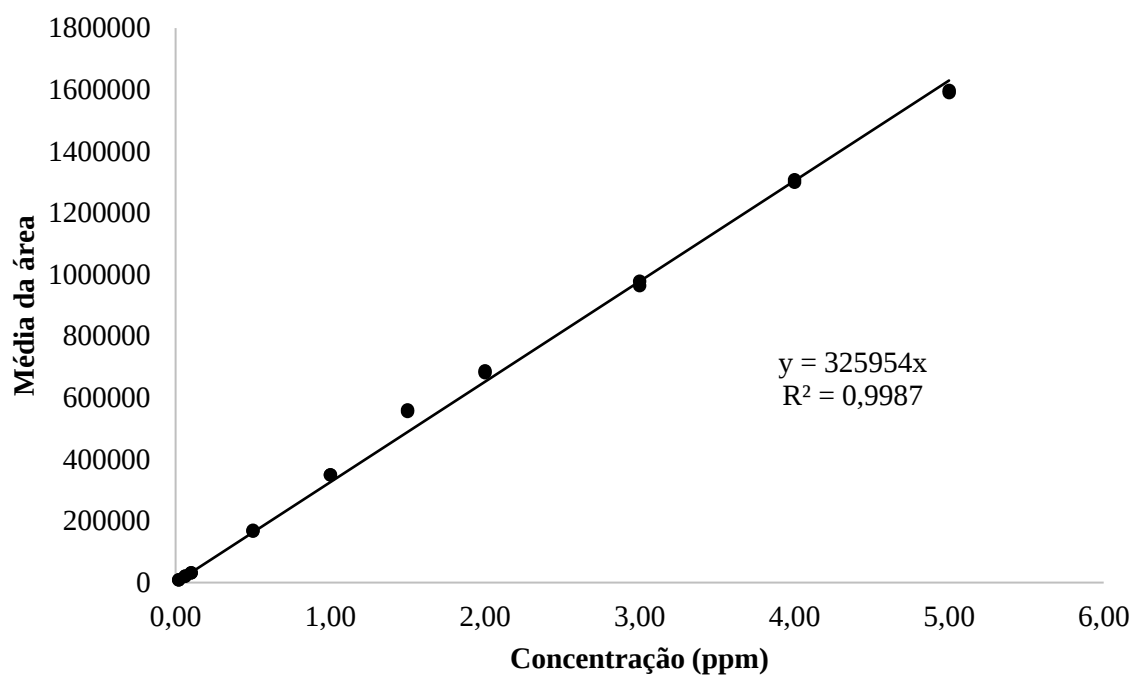
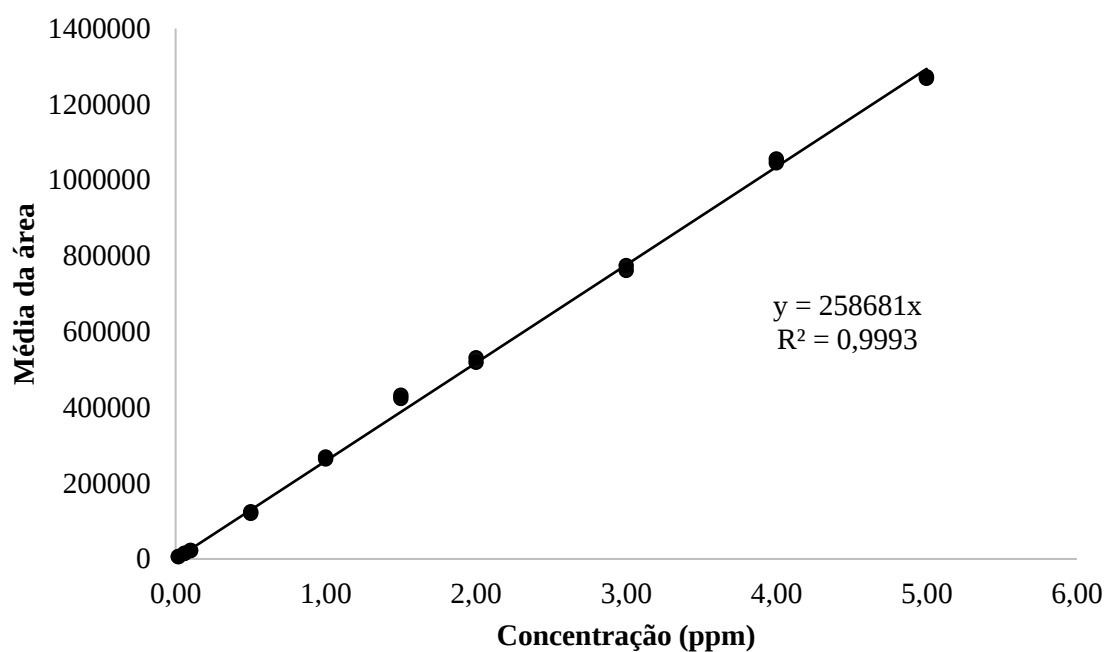
Figura 3C. Curva padrão de δ -tocoferolFigura 4C. Curva padrão de α -tocotrienol

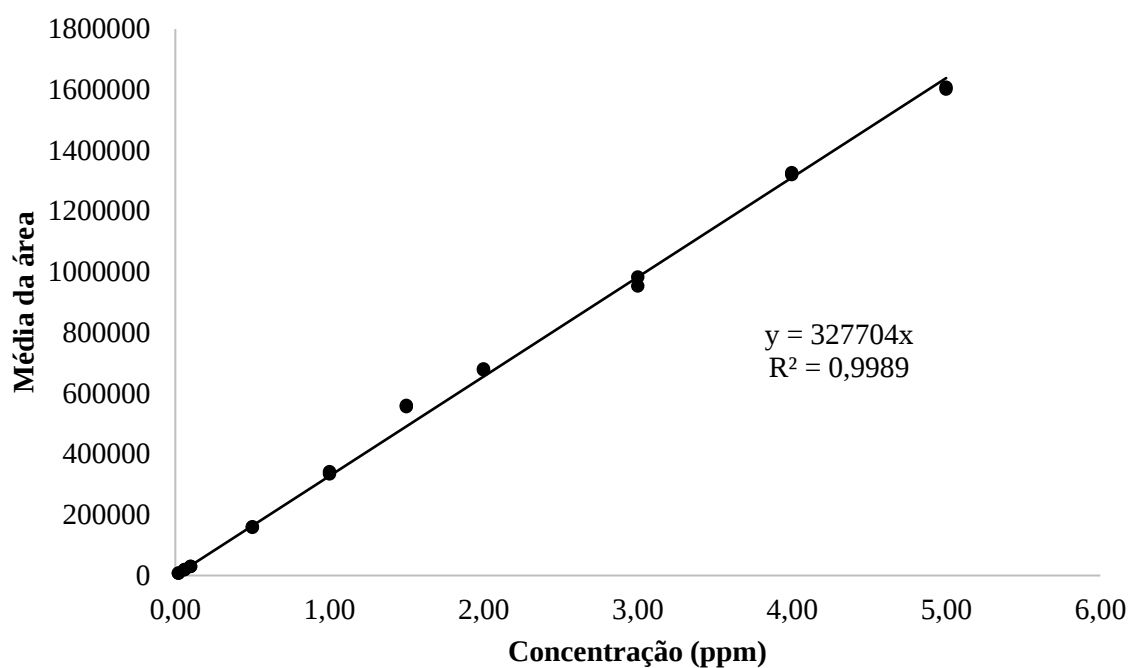
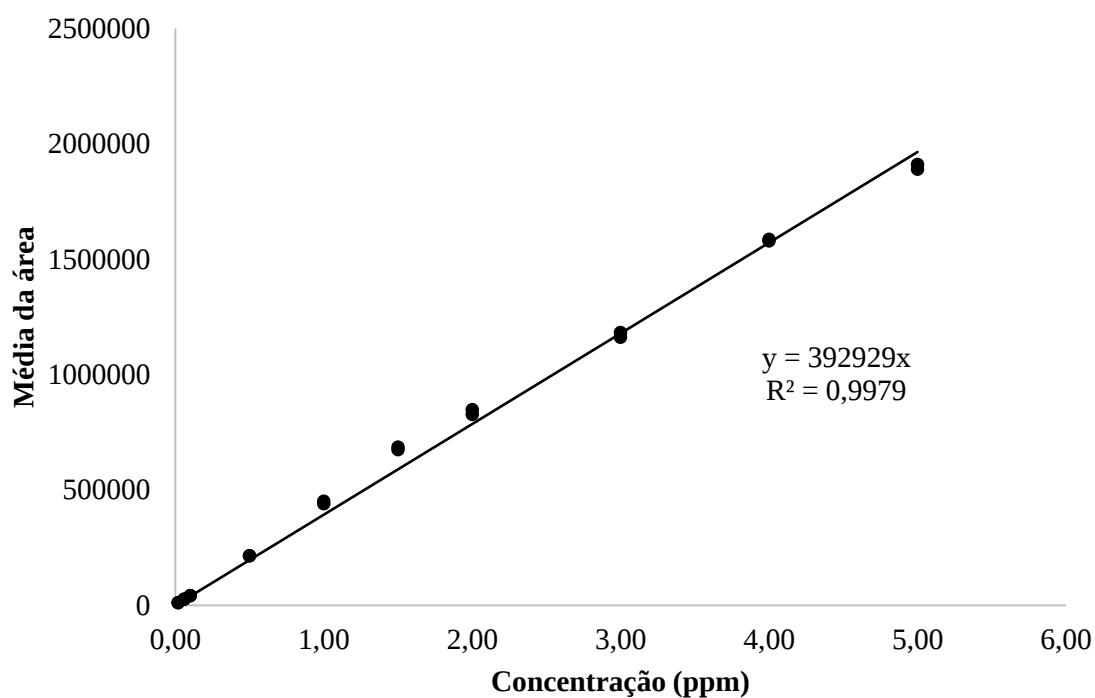
Figura 5C. Curva padrão de β/γ -tocotrienolFigura 6C. Curva padrão de δ - tocotrienol

Figura 7C. Curva padrão de ácido elágico

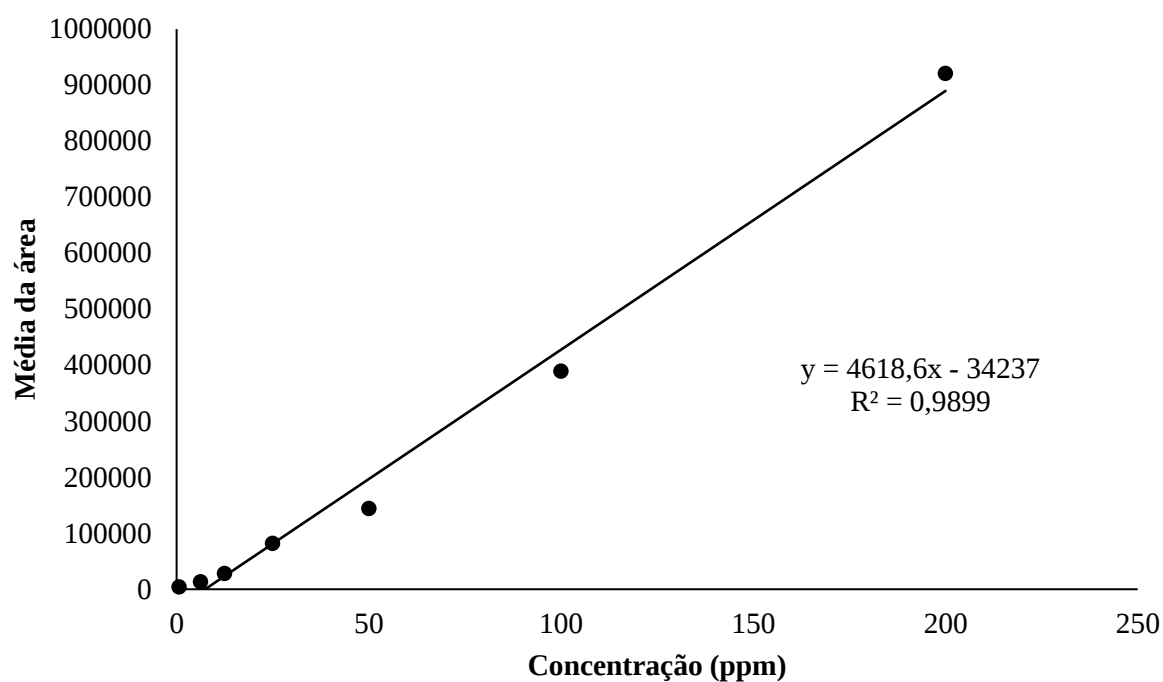


Figura 8C. Curva padrão de fenólicos totais

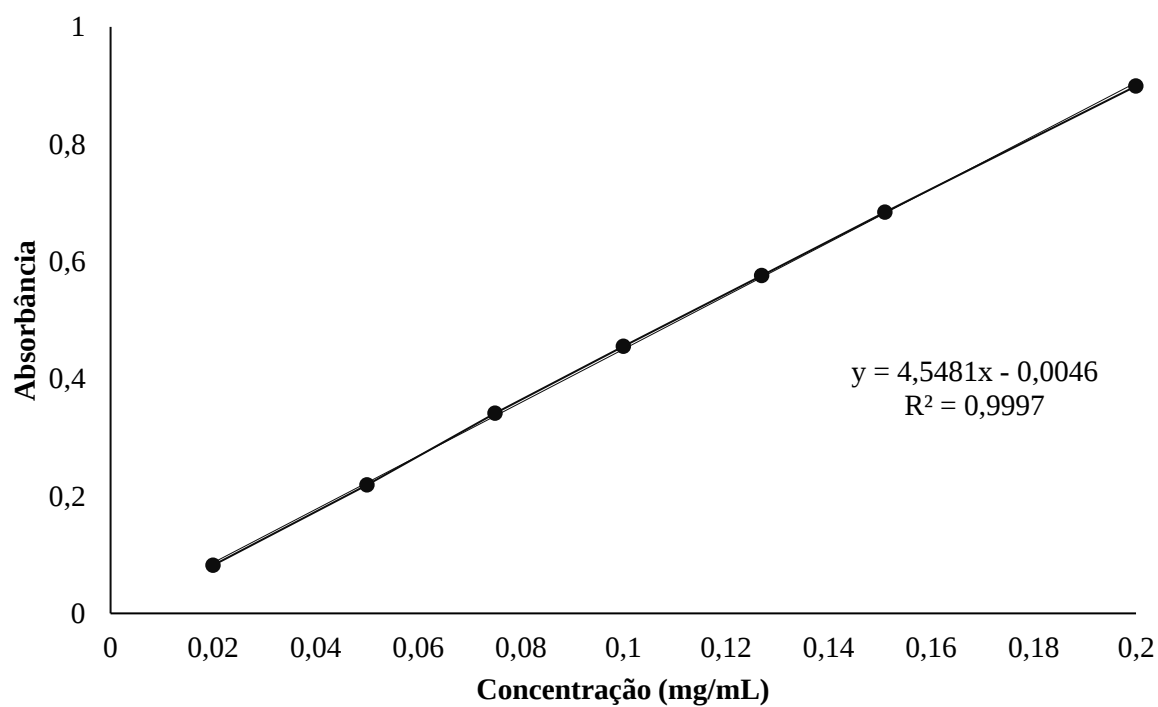


Figura 9C. Curva padrão de ORAC

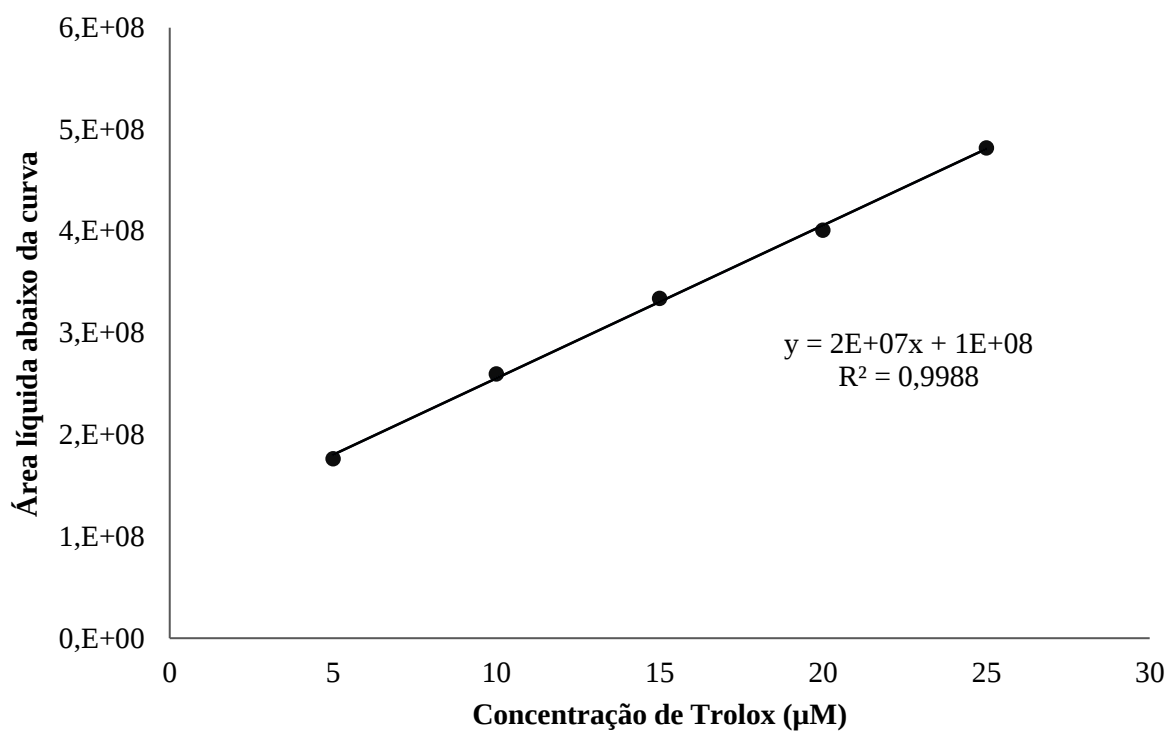
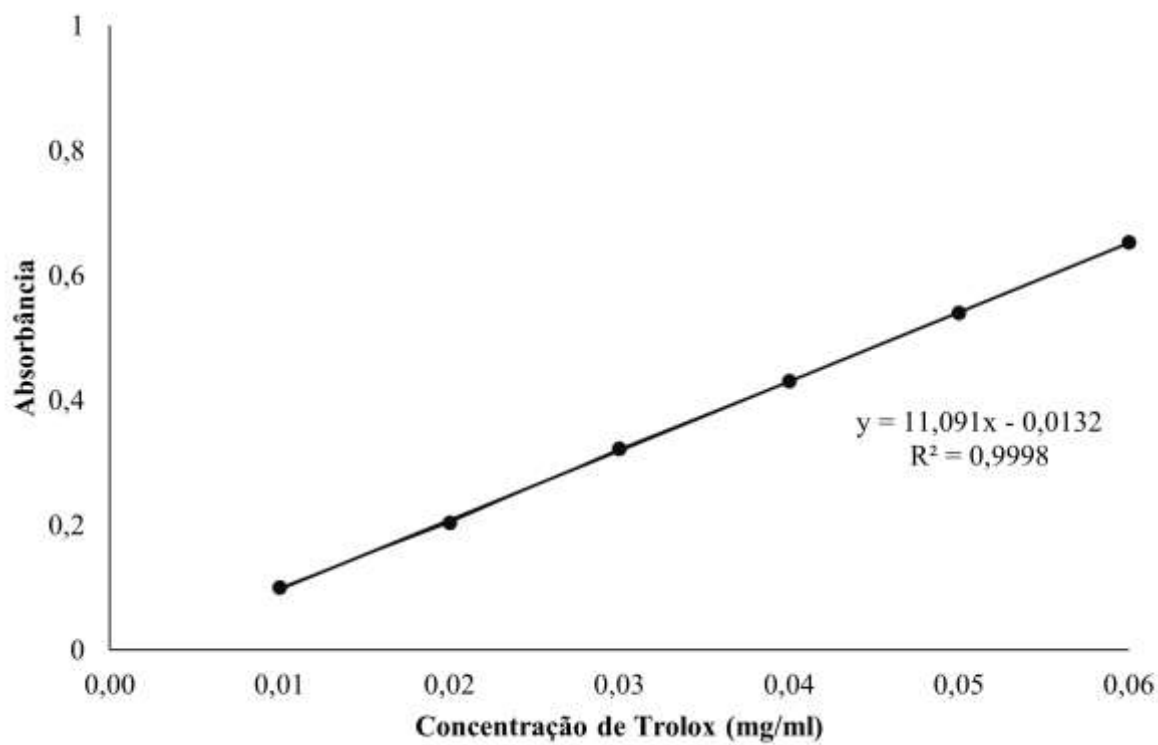


Figura 10C. Curva padrão de FRAP



IV. Apêndice D. Cromatogramas

Figura 1D. Cromatograma do padrão de ácido elágico.

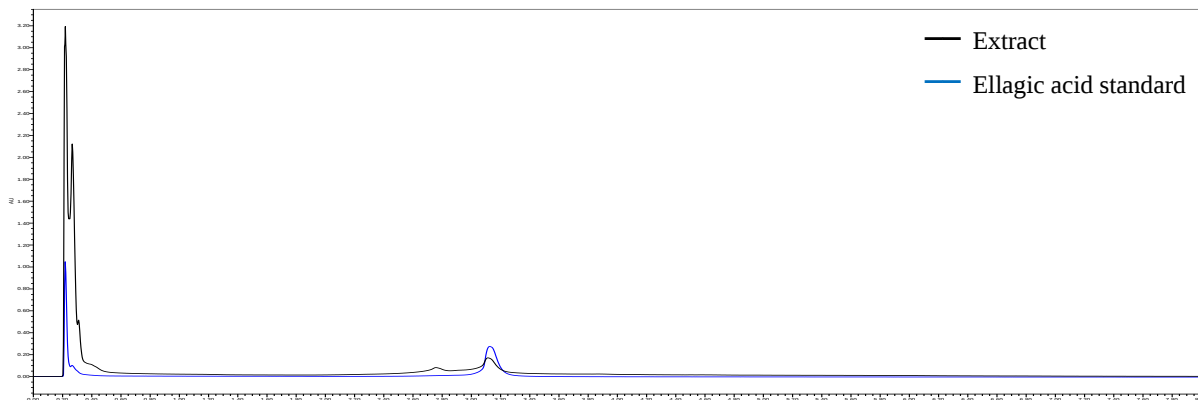


Figura 2D. Cromatograma da identificação dos compostos obtidos para as amostras de PLE.

