

# EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE CASQUILHO DE GUARANÁ (*Paullinia cupana*) COM LÍQUIDO PRESSURIZADO

**Palavras-Chave:** CASQUILHO DE GUARANÁ, PLE, COMPOSTOS BIOATIVOS

**Autores(as):**

**Juliana de Oliveira Garcia – FEA/UNICAMP**

**Rayanne Priscilla França de Mello – FEA/UNICAMP**

**Prof. Dr. Julian Martinez – FEA/UNICAMP**

## INTRODUÇÃO

Alimentos funcionais podem ser consumidos diariamente, produzindo efeitos positivos ao organismo além das funções nutricionais básicas e reduzindo o risco de doenças crônicas (DOYON; LABRECQUE, 2008). A crescente procura atual por um estilo de vida mais saudável faz com que a busca por alimentos funcionais seja ampliada significativamente (BAKER, et al., 2022). O guaraná (*Paullinia cupana*) é um fruto que possui diversos compostos bioativos, podendo ser indicado como fonte de ingredientes para alimentos funcionais (DA SILVA, et al., 2019).

O guaraná é um fruto nativo do território brasileiro produzido atualmente de forma majoritária no Brasil, sendo Amazonas, Bahia, Mato Grosso, Pará e Acre os estados com maiores produções. A fruta é esférica e apresenta apenas uma semente. O casquilho é marrom-escuro e é parcialmente coberto por uma camada branca (arilo) (FERREIRA et al., 2022).

Devido ao seu alto potencial na indústria e propriedades medicinais, o guaraná tornou-se uma matéria-prima valiosa para as indústrias cosmética e alimentícia (SALLES et al., 2022). A parte mais utilizada do guaraná para fins comerciais são as sementes secas, devido ao seu alto teor de cafeína (FERREIRA et al., 2022). Desta forma, na indústria utiliza apenas a semente do fruto, fazendo com que os demais componentes do guaraná se tornem resíduos de produção (PINHO et al., 2022). Assim, a comercialização do guaraná resulta na formação de resíduos que resistem à degradação biológica, tornando os custos de estocagem desses resíduos um obstáculo para a fabricação de subprodutos. Isso destaca a necessidade de explorar outras partes do fruto, que podem ser novas fontes de recursos para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética, como o casquilho (ANTUNES, 2011).

O consumo de guaraná é associado a efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, além de melhora no sistema cardiovascular, com a redução dos níveis de oxidação de colesterol e dos níveis de colesterol sanguíneo. O guaraná contribui com aumento da saciedade, colaborando contra a obesidade, podendo também atuar contra depressão e possuir efeitos anticancerígenos. Em doses adequadas, o guaraná confere melhora cognitiva e no humor. A combinação de cafeína com compostos fenólicos presentes no guaraná pode diminuir aspectos indesejados causados pela alta dose de cafeína, como insônia, tontura e ansiedade. Estes compostos contribuem para tornar o efeito da cafeína no organismo mais suave e constante, dado que retarda sua absorção (TORRES, et al., 2022).

A extração de líquido pressurizado (PLE) é uma técnica avançada que utiliza solventes em altas temperaturas e pressões, mantendo-os no estado líquido, contribuindo com a transferência de massa e aumentando a solubilidade dos compostos de interesse. Essa característica faz com que os rendimentos da PLE sejam mais altos e os processos mais rápidos que nas extrações tradicionais, além de consumir menos solvente (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020).

Desta forma, este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência da PLE na extração de compostos bioativos do casquilho de guaraná, analisando diferentes condições experimentais e seus rendimentos, bem como a caracterização dos compostos obtidos.

## METODOLOGIA

### Extração de Líquido Pressurizado (PLE):

A Figura 1 representa o fluxograma da unidade de PLE utilizada nos experimentos. Para a extração foi usada uma relação de massa de solvente por massa de amostra (S/F – *solvente to feed*) de 64,9 g de solvente/g de amostra. Inicialmente foi adicionado filtro e algodão na coluna de extração (50 mL) seguido de 3 g da amostra. Posteriormente, a coluna foi fechada e posicionada na unidade de PLE para o início do processo, que foi realizado em três bateladas estáticas. O leito de extração foi conectado às tubulações de entrada e saída de solvente da unidade de PLE, juntamente com o sistema de aquecimento elétrico, que controla a temperatura do processo. Após o leito atingir a temperatura de processo, a bomba é acionada, dando início à primeira batelada. À medida que o solvente preenche o volume do leito de extração, este é pressurizado até atingir a pressão de processo. Quando a temperatura e pressão atingem os valores desejados, o solvente é mantido estático no leito durante o tempo estabelecido para a batelada de extração. Após este tempo, a bomba é desligada e a válvula micrométrica é aberta, permitindo a redução da pressão do sistema e a coleta do extrato. O extrato é armazenado em um frasco âmbar e refrigerado a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  para as análises subsequentes.

**Figura 1** - Fluxograma da unidade de extração PLE (linha pontilhada)

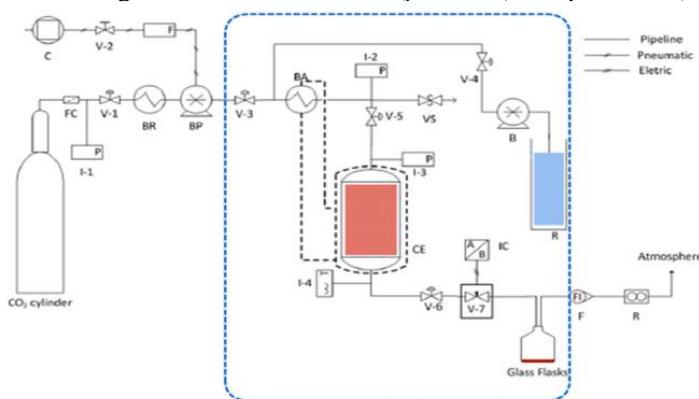


Figura 1 - Fluxograma da unidade PLE. V-1 a V-6: válvulas de bloqueio; V-7: válvula micrométrica; VS: válvula de segurança; C: compressor; F: filtro de ar; FC: filtro de CO<sub>2</sub>; BR: banho de refrigeração; BP: bomba de CO<sub>2</sub>; BA: banho de aquecimento; CE: coluna de extração; CB: banho de resfriamento; Pump: bomba de CO<sub>2</sub>; R: reservatório de solvente; B: bomba HPLC; I-1, I-2 e I-3: indicadores de pressão; I-4: indicadores de temperatura; IC: controlador de temperatura; F: medidor de fluxo; GF: recipiente de coleta de extrato; R: totalizador de fluxo (Viganó et al., 2016).

A PLE foi realizada em nove condições experimentais (Tabela 1), sendo utilizado como solvente etanol 100%, pressão de 10 MPa em três bateladas para cada extração. Todas as condições foram realizadas em duplicata.

**Tabela 1** – Condições experimentais de PLE de casquilho de guaraná

Condição	Bateladas (minutos)	Temperatura (°C)
1	5	60
2		80
3		100
4	15	60
5		80
6		100
7	25	60
8		80
9		100

### Rendimento Global:

O rendimento global das extrações foi calculado relacionando a massa total do extrato ( $m_{ext}$ ) em base seca com a massa de alimentação do casquilho de guaraná (F), conforme a Equação 1.

$$x_0 = \frac{M_{extrato}}{F} * 100 \quad (1)$$

Para PLE, a massa do extrato seco foi determinada secando uma alíquota de 5 mL a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  em uma estufa de circulação de ar (Marconi, MA 033) até atingir peso constante, resultando na massa do extrato seco ( $m_{ext}$ ).

### Capacidade Redutora Total (CRT):

A determinação de capacidade redutora total foi determinada conforme descrito por Singleton et al. (1999) com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu. Para a construção das curvas de calibração, foram utilizadas

soluções de ácido gálico nas concentrações de 0,02 a 0,2 mg/mL. As amostras foram diluídas em água destilada de modo que sua absorbância estivesse entre 0,1 e 0,9. Foram adicionados 20 µL do reagente de Folin-Ciocalteu em 20 µL de amostra e, após 3 minutos de espera, adicionou-se 20 µL de solução saturada de carbonato de sódio. Por fim, foram adicionados 140 µL de água destilada em todos os poços de leitura. Após duas horas, as leituras foram realizadas a 725 nm em leitor de microplacas (FLUOstar Omega BMG LABETECH GmbH, Ortenberg, Alemanha) e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por grama de casquilho em base seca.

### **Capacidade Antioxidante:**

A capacidade antioxidante dos extratos foi determinada utilizando o método FRAP, baseado em Benzie & Strain (1996) com algumas modificações. Os extratos foram filtrados e diluídos em água destilada. A solução FRAP foi preparada com uma solução tampão de acetato 0,3 M (pH = 3,6), 10 mM de TPTZ em solução de HCl 40 mM, e 20 mM de FeCl<sub>3</sub>. Quadruplicatas do extrato diluído (90 µL) foram adicionadas a 270 µL de água e 2,7 mL da solução FRAP, sendo mantidas no escuro por 30 minutos a 37 °C. A absorbância foi então medida a um comprimento de onda de 595 nm em um espectrofotômetro (FLUOstar Omega BMG LABETECH GmbH, Ortenberg, Alemanha). A curva padrão de Trolox (100-600 M) foi utilizada e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de Trolox (TE /g de casquilho seco).

### **Análise Estatística:**

Todos os resultados foram realizados em duplicata e avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), onde o teste de Tukey analisou diferenças significativas ao nível de 5%. As análises de dados foram realizadas utilizando o software MINITAB® (versão 16.1.0.1 Minitab Inc.).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Rendimento Global:**

A Figura 2 apresenta o rendimento global dos extratos por PLE do casquilho do guaraná nas diferentes condições de extração.

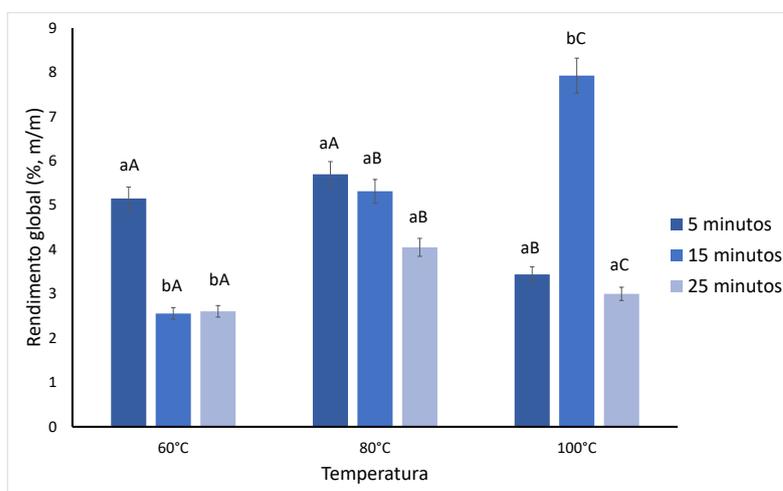


Figura 1 – Rendimento global de PLE do casquilho de guaraná. Letras minúsculas na mesma temperatura indicam diferença significativa em relação ao tempo de processo pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas comparam estatisticamente temperaturas diferentes em tempos iguais pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Nos resultados apresentados na Figura 2, observa-se que o tempo das bateladas e a temperatura apresentam influência significativa no rendimento global da PLE.

Em relação à temperatura, é possível notar que as extrações realizadas a 80 °C apresentam, em geral, poucas variações de rendimento global entre os três tempos de batelada, variando apenas entre 4 e 5,5%, e em 60 °C, vê-se esse comportamento em 15 e 25 minutos. Entretanto, o maior rendimento é observado na temperatura de 100 °C a 15 minutos. Nesta condição, o rendimento da batelada é cerca de 7,92%. A alta temperatura afeta as propriedades de transferência de massa ao alterar a tensão superficial, a difusividade e a viscosidade do solvente. Com o aumento da temperatura do solvente, a tensão superficial e a viscosidade diminuem, enquanto a difusividade aumenta, permitindo uma transferência de massa mais rápida. Além disso, altas temperaturas contribuem para a dessorção dos compostos de interesse da matriz para o solvente, já que as interações intermoleculares entre os compostos e a matriz são reduzidas, resultando em uma extração mais eficiente. No entanto, a exposição por tempo prolongado

em altas temperaturas devem ser considerada quando os compostos-alvo são sensíveis ao calor, pois a degradação dos compostos pode ocorrer durante o processo de extração (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020). Isso pode ser observado nos resultados apresentados, visto que o rendimento global é reduzido em extrações realizadas a 80 °C e 100°C com batelada de 25 minutos.

### **Capacidade Redutora Total (CRT):**

A Capacidade Redutora Total (CRT) obtida na PLE de casquilho de guaraná está apresentada na Figura 3.

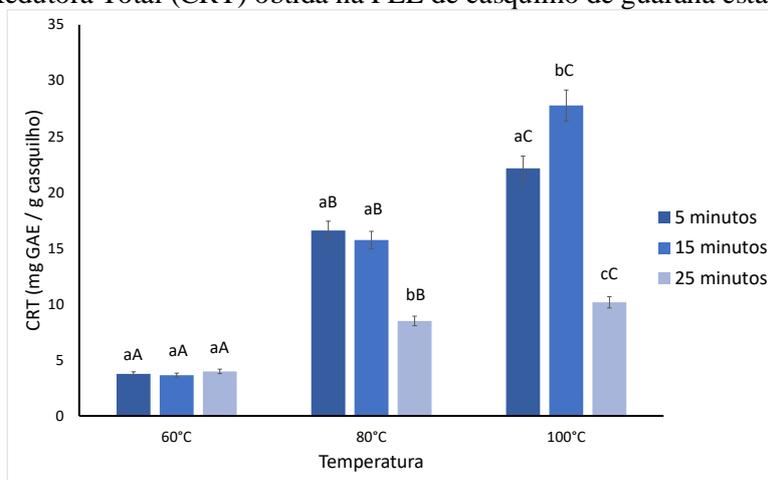


Figura 3 – Capacidade Redutora Total dos extratos obtidos por PLE do casquilho de guaraná. Letras minúsculas na mesma temperatura indicam diferença significativa em relação ao tempo de processo pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas comparam estatisticamente temperaturas diferentes em tempos iguais pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A maior CRT foi obtida a 100 °C, em batelada de 15 minutos (27,77 mg GAE/g casquilho) da mesma forma que o rendimento discutido na seção anterior. Os menores teores foram observados a 60 °C em todos os tempos de batelada. Não há diferença significativa entre os valores obtidos a 60 °C em relação ao tempo de batelada. No entanto, no mesmo tempo e em temperaturas diferentes, há diferença significativa não só a 60 °C, mas a 80 e 100 °C.

Na PLE estática, pode-se estabelecer um equilíbrio entre os compostos ainda ligados à matriz sólida e a fase líquida, na qual eles já estão solubilizados. Esse ponto é alcançado quando a concentração dos compostos dissolvidos na fase líquida não aumenta mais significativamente, pois a concentração dos compostos da matriz sólida na fase líquida atinge um estado de equilíbrio de partição. Desse modo, a quantidade de compostos extraídos da matriz sólida e dissolvidos no solvente líquido se torna constante, indicando que o máximo de extração foi alcançado sob as condições específicas de tempo e temperatura (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020). Nesse contexto, observa-se que um tempo de batelada de 15 minutos é o mais adequado para a PLE de casquilho de guaraná, visto que bateladas superiores podem promover a degradação do analito.

Martins (2010) reportou 7,868 mg GAE/g de semente de guaraná. Embora semente e casquilho sejam partes fisiologicamente diferentes do guaraná, os extratos de casquilho de guaraná obtidos no presente trabalho apresentam um maior teor de compostos com capacidade redutora total, quando comparados à semente.

### **Capacidade Antioxidante:**

Os resultados das análises de capacidade antioxidante, determinadas pelo método FRAP, dos extratos obtidos por PLE do casquilho de guaraná estão apresentados na Figura 4.

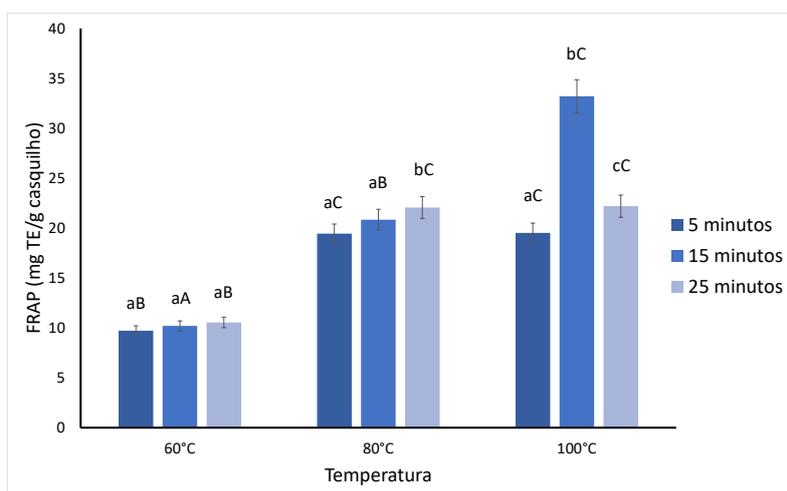


Figura 4 – Capacidade antioxidante (FRAP) dos extratos obtidos por PLE do casquilho de guaraná. Letras minúsculas na mesma temperatura indicam diferença significativa em relação ao tempo de processo pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas comparam estatisticamente temperaturas diferentes em tempos iguais pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A maior capacidade antioxidante foi obtida a 100 °C, com o valor mais alto registrado em batelada de 15 minutos (33,19 mg TE/g casquilho) e as menores foram observadas a 60 °C, da mesma forma que na CRT. Não há diferença significativa entre os valores obtidos a 60 °C em relação ao tempo de batelada. No entanto, o tempo de batelada gera uma diferença significativa a 100°C.

Este resultado segue o padrão observado na análise de rendimento global e na capacidade redutora total, indicando que a maior temperatura permite uma transferência de massa mais rápida e maior dessorção do composto da matriz para o solvente. Da mesma forma, o tempo de batelada não deve ultrapassar 15 minutos em temperaturas elevadas, como 100 °C, a fim de evitar a degradação de compostos (ALVAREZ-RIVERA et al., 2020).

## CONCLUSÕES

A PLE estática de casquilho de guaraná obteve o maior rendimento global em 100 °C e 15 minutos de batelada. Essa mesma condição de extração também apresentou as maiores CRT e capacidade antioxidante (FRAP). Isso pode indicar que 15 minutos seja o tempo máximo de batelada de extração na PLE estática para solubilizar os compostos, diferentemente de 25 minutos, uma vez que a quantidade destes foi mais reduzida tanto no rendimento global da extração, como na CRT e na capacidade redutora total.

O casquilho de guaraná pode ser considerado uma matéria-prima potencial para a obtenção de compostos fenólicos através da PLE.

Estudos futuros podem identificar os compostos fenólicos extraídos por PLE de casquilho de guaraná, avaliar a aplicabilidade destes compostos e analisar a viabilidade econômica do processo de PLE.

## BIBLIOGRAFIA

- ALVAREZ-RIVERA, G. et al. Pressurized liquid extraction. In: Liquid-phase extraction. Elsevier, 2020. p. 375-398.
- ANTUNES, P. B. Análise comparativa das frações polpa, casca, semente e pó comercial do guaraná (*Paullinia cupana*): caracterização química e atividade antioxidante in vitro. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- BAKER, M. T. et al. Consumer acceptance toward functional foods: A scoping review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 19, n. 3, p. 1217, 2022.
- DA SILVA, C. P. et al. Guarana as a source of bioactive compounds. *Journal of Food Bioactives*, v. 6, 2019.
- DOYON, M.; LABRECQUE, J. Functional foods: a conceptual definition. *British Food Journal*, v. 110, n. 11, p. 1133-1149, 2008.
- FERREIRA, F. A. M. et al. Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth), marapuama (*Ptychopetalum olacoides* Benth.), genciana (*Gentiana lutea* L.), quassia (*Quassia amara* L.) e suas propriedades: uma breve revisão. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 2, p. e21711224592-e21711224592, 2022.
- MARTINS, C. de A. Avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo do guaraná (*Paullinia cupana*) em pó. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- PINHO, L. S. et al. Encapsulation of rich-carotenoids extract from guaraná (*Paullinia cupana*) byproduct by a combination of spray drying and spray chilling. *Foods*, v. 11, n. 17, p. 2557, 2022.
- SALLES, R. C. O. et al. Geographical origin of guarana seeds from untargeted UHPLC-MS and chemometrics analysis. *Food Chemistry*, v. 371, p. 131068, 2022.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: *Methods in enzymology*. Academic press, 1999. p. 152-178.
- TORRES, E. A. F. S. et al. Effects of the consumption of guarana on human health: A narrative review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 21, n. 1, p. 272-295, 2022.
- VIGANÓ, J. et al. Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. *Food and Bioproducts Processing*, v. 100, p. 382-390, 2016.