

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

Tássia Carla Confortin

**CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS EXTRATIVOS COM APLICABILIDADE NA AGRICULTURA**

Santa Maria, RS  
2021



**Tássia Carla Confortin**

**CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*  
OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS EXTRATIVOS COM APLICABILIDADE  
NA AGRICULTURA**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Engenharia Agrícola**.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Tres  
Coorientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Mazutti

Santa Maria, RS  
2021

Confortin, Tássia Carla  
CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE *Senecio brasiliensis* e  
*Solanum viarum* OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS EXTRATIVOS  
COM APLICABILIDADE NA AGRICULTURA / Tássia Carla  
Confortin.- 2021.  
188 p.; 30 cm

Orientadora: Marcus Vinícius Tres  
Coorientadora: Marcio Antonio Mazutti  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Engenharia Agrícola, RS, 2021

1. *Solanum viarum* 2. *Senecio brasiliensis* 3. Técnicas  
extrativas 4. Metabólitos secundários 5. Potencial  
alelopático I. Tres, Marcus Vinícius II. Mazutti, Marcio  
Antonio III. Título.

Tássia Carla Confortin

**CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*  
OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS EXTRATIVOS COM APLICABILIDADE  
NA AGRICULTURA**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Engenharia Agrícola, como requisito  
parcial para obtenção do título de **Doutora em  
Engenharia Agrícola**.

Aprovada em 06 de agosto de 2021:



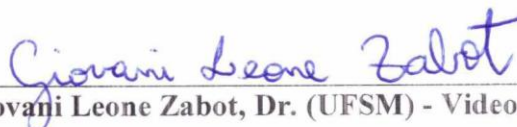
---

**Marcus Vinícius Tres, Dr. (UFSM) - Videoconferência**  
Presidente/Orientador



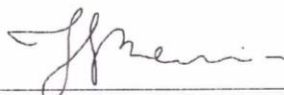
---

**Marcio Antonio Mazutti, Dr. (UFSM) - Videoconferência**  
Coorientador



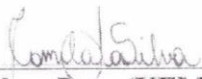
---

**Giovanni Leone Zobot, Dr. (UFSM) - Videoconferência**



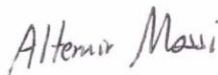
---

**Juliano Barin, Dr. (UFSM) - Videoconferência**



---

**Camila da Silva, Dra. (UEM) - Videoconferência**



---

**Altamir Mossi, Dr. (UFFS) - Videoconferência**

Santa Maria, RS  
2021



## **AGRADECIMENTOS**

Só se vê bem com o coração. O essencial é invisível aos olhos”

Pequeno príncipe. Saint Exupéry

À Deus que sempre iluminou o meu caminho, guiou os meus passos, me dando forças para seguir em frente, me abençoando, por nunca soltar a minha mão e só colocar pessoas maravilhosas na minha vida.

Aos meus queridos pais, Aldecir e Leonira, pelo amor, carinho, confiança, incentivo e apoio incondicional, por serem o meu alicerce e o meu porto seguro. Agradeço imensamente por entenderem quando tive que me fazer ausente, não podendo estar presente em várias ocasiões. A meu irmão Michel por todos os momentos de descontração, companheirismo, amizade, tolerância e amor. Sabes o quanto és especial para mim. Ao meu namorado Izelmar, pelo amor, incentivo, paciência, companheirismo e pela ajuda que necessitei durante a realização deste trabalho.

Aos meus familiares e amigos, que mesmo de longe sempre apoiaram, me deram força, por sempre ouvirem os meus desabafos, pelos conselhos, incentivo, carinho e risadas proporcionadas. Aos meus queridos amigos que fiz durante este ciclo em Santa Maria, os quais se tornaram tão importantes, onde dividimos momentos de alegria, compreensão, aprendizado e ensinamentos. Obrigada pela amizade forte e verdadeira. Ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Vinicius Tres e ao meu coorientador Prof. Dr. Marcio Antonio Mazutti, agradeço a confiança em que depositaram a mim para desenvolver este trabalho, pela imensa atenção, dedicação e comprometimento na orientação por meio de sugestões e correções essenciais para a conclusão do presente estudo. Verdadeiramente tive grandes mentores que pude contar neste período que contribuiu muito para minha formação.

Agradeço ao Prof. Dr. Giovani pelas contribuições aos trabalhos realizados, a sempre estar disposto a ajudar, seu apoio e seus ensinamentos foram fundamentais para meu crescimento e fico imensamente feliz por ter tido a oportunidade de trabalhar com você.

Agradeço aos membros da banca examinadora, pelas sugestões e correções que com certeza serão essenciais para o resultado final desta Tese. A todos os professores do Departamento de Engenharia Agrícola, obrigada pelos ensinamentos e orientações.

Agradeço a Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, por ser um lugar de excelência para estudar e a CAPES (Coordenação de

Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Ministério da Educação) pela disponibilização de minha bolsa de estudo.

A vocês e todos aqueles que de forma direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista, que sempre acreditaram em mim, me ajudaram e apoiaram dando força para vencer mais esta etapa da minha vida, o meu muito obrigada! Escolher Santa Maria e a UFSM para ser minha casa e meu trabalho foi uma escolha difícil, mas hoje estou convicta que foi a escolha mais correta, pois tive as melhores pessoas ao meu lado. Foram muitas as aprovações, momentos difíceis longe de quem amamos, a tentação de desistir bateu muitas vezes em minha porta, mas sempre tinha um de vocês para dizer não! Eu confio em você! Siga em frente! Vai dar tudo certo! ou, se não der estou aqui! Por esses motivos, que sou muito grata.

“Quero, um dia, poder ter a liberdade de dizer às pessoas que nada foi em vão... Que o amor existe, que vale a pena se doar as amizades e às pessoas, que a vida é bela sim, e que eu sempre dei o melhor de mim... e que valeu a pena”.

Nada foi em vão de Mário Quintana

GRATIDÃO



## RESUMO

### CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATOS DE *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS EXTRATIVOS COM APLICABILIDADE NA AGRICULTURA

AUTOR: Tássia Carla Confortin  
ORIENTADOR: Dr. Marcus Vinícius Tres

O presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial de plantas utilizadas de forma empírica na agricultura, bem como avaliar diferentes métodos extrativos, realizar a caracterização dos extratos obtidos e analisar o seu potencial alelopático. Na primeira etapa experimental foram avaliados os rendimentos e a composição química das matrizes raízes e frutos de *Solanum viarum* e flores, folhas e caules de *Senecio brasiliensis*, utilizando diferentes técnicas de extração: Soxhlet, maceração, extração com fluidos supercríticos (EFS), extração assistida por ultrassom (EUS), líquidos pressurizados (LP) e hidrodifusão por micro-ondas e gravidade (MHG). Para a EFS, o solvente utilizado foi o dióxido de carbono com valores de pressão fixados entre 150 e 250 bar e os valores da temperatura entre 40°C e 60°C. Nas extrações com EUS, uma solução hidroalcoólica (60% água/40% etanol (v/v)) foi utilizada como solvente e os efeitos da intensidade do ultrassom (17 a 85 Wcm<sup>-2</sup>) e do ciclo de pulso (0,5–1,0) nos rendimentos da extração das matrizes foram avaliados. Para as extrações com LP, etanol, água e suas misturas foram utilizados como solventes na pressão de 10 MPa em temperaturas entre 30°C e 60°C, com concentração de etanol de 70 a 100% (v/v). Para as extrações com hidrodifusão por micro-ondas e gravidade (MHG) foi utilizado como solvente água e etanol em uma proporção de 60 ml etanol e 40 ml de água, à pressão atmosférica e sob 400 W de potência. Ressalva-se que para comparação foram realizadas extrações convencionais utilizando Soxhlet e maceração. Todos os extratos obtidos foram analisados quanto a constituição química em um sistema de cromatografia gasosa acoplado a um espectômetro de massa. Na 2ª etapa do trabalho, foi avaliado o potencial alelopático dos extratos obtidos por ultrassom na condição de 85 Wcm<sup>-2</sup> de potência e 1,0 de ciclo de pulso para as matrizes das duas espécies em estudo, a uma concentração de 100 mg/mL, utilizando como solvente etanol. A atividade fungicida foi testada nos fungos *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum* e a ação herbicida foi testada em pré emergência em sementes de *Cucumis sativus*. Os resultados desta Tese demonstram que as diferentes técnicas de extração são tecnologias eficientes para a extração de compostos de *S. viarum* e *S. brasiliensis*, os extratos das matrizes vegetais são uma fonte potencial de compostos bioativos e ambas as espécies estudadas mostram um grande potencial antifúngicos e herbicida.

**Palavras-chave:** *Solanum viarum*. *Senecio brasiliensis*. Técnicas extrativas. Metabólitos secundários. Potencial alelopático.



## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF *Senecio brasiliensis* and *Solanum viarum* EXTRACTS OBTAINED BY DIFFERENT EXTRACTIVE METHODS WITH APPLICABILITY IN AGRICULTURE

AUTHOR: Tássia Carla Confortin  
ADVISOR: Dr. Marcus Vinícius Tres

The present work aimed to investigate the potential of plants used empirically in agriculture, as well as evaluate different extractive methods, carry out the characterization of the obtained extracts and analyze their allelopathic potential. In the first experimental stage, the yield and chemical composition of the root and fruit matrices of *Solanum viarum* and flowers, leaves and stalks of *Senecio brasiliensis* were evaluated, using different extraction techniques: Soxhlet, maceration, supercritical fluids extraction (SFE), ultrasound-assisted extraction (UAE), pressurized liquid extraction (PLE) and microwave hydrodiffusion and gravity (MHG). For SFE, the solvent used was carbon dioxide with pressure values set between 150 and 250 bar and temperature values between 40°C and 60°C. In UAE, a hydroalcoholic solution (60% water/40% ethanol) was used as solvent and the effects of ultrasound intensity (17–85 W/cm<sup>2</sup>) and pulse cycle (0.5–1.0) in the extraction yields of matrices were evaluated. For PLE, ethanol, water and their mixtures were used as solvents at a pressure of 10 MPa and temperatures between 30°C and 60°C, with ethanol concentration of 70 to 100% (v/v). For MHG, water and ethanol were used as solvent in a proportion of 60 ml ethanol and 40 ml water, under atmospheric pressure and 400 W of power. For comparison, conventional extractions with Soxhlet and maceration were performed. All extracts obtained were analyzed for chemical composition in a gas chromatography system coupled to a mass spectrometer. In the second step, the allelopathic potential of the extracts obtained by ultrasound under the condition of 85 W/cm<sup>2</sup> power and 1 pulse cycle for the matrices of two species under study was evaluated, at a concentration of 100 mg/ml, using as a solvent ethanol. The fungicidal activity was tested in fungi *Fusarium graminearum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and the herbicidal action was tested in pre-emergence of *Cucumis sativus* seeds. The results of this thesis demonstrate that the different extraction techniques are efficient technologies for extraction of compounds from *S. viarum* and *S. brasiliensis*, the matrix extracts are a potential source of bioactive compounds and both species studied show a great antifungal and herbicide potential.

Keywords: *Solanum viarum*. *Senecio brasiliensis*. Extractive techniques. Secondary metabolites. Allelopathic potential.



## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO 1 - APRESENTAÇÃO**

Figura 1.1- Fluxograma das atividades realizadas na Tese de Doutorado.....25

### **CAPÍTULO 2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Figura 2.1 - Distribuição do gênero *Senecio* sp. (A) e distribuição da espécie *Senecio brasiliensis* no Brasil (B).....26

Figura 2.2 - Aspectos da Maria Mole de ocorrência espontânea em Getúlio Vargas/RS. (A) predominância da planta em pastagem, (B) inflorescência e (C) folha e caule .....27

Figura 2.3 - Distribuição do gênero *Solanum* sp. (A) e distribuição da espécie *Solanum viarum* no Brasil (B).....29

Figura 2.4 - Aspectos do Joá bravo de ocorrência espontânea em Getúlio Vargas/RS. (A) estado vegetativo, (B) frutos e espinhos e (C) parte interna do fruto.....30

Figura 2.5 - Elucidação da síntese de metabólitos secundários.....32

Figura 2.6 - Vias gerais de produção de metabólitos secundários.....33

Figura 2.7 – Efeito dos bioherbicidas no controle de plantas daninhas.....37

Figura 2.8 - Tipos de tecnologias de extração usadas para a extração de compostos bioativos.....39

Figura 2.9 - Evolução ou revolução da extração.....40

Figura 2.10 - Aparato experimental utilizado nas extrações com fluidos supercríticos.....44

Figura 2.11 - Diagrama de um aparato experimental para extração assistida por ultrassom.....46

Figura 2.12 - Representação esquemática dos principais processos durante a extração ultrassônica de matrizes vegetais.....47

Figura 2.13 - Curva típica de um processo de extração por líquidos pressurizados.....49

Figura 2.14 - Aparato experimental para extração com líquidos pressurizados.....51

Figura 2.15 - Representação esquemática das etapas individuais no processo de isolamento de óleos essenciais a partir de materiais vegetais.....52

Figura 2.16 - Hidrodifusão e gravidade de micro-ondas.....53

### **CAPÍTULO 3- ARTIGO 1- Valorização do *Solanum viarum* Dunal por extração de compostos bioativos das raízes e frutos utilizando Ultrassom e CO<sub>2</sub> supercrítico**

Figura 1- Curvas cinéticas para extração de *Solanum viarum* usando EFS-CO<sub>2</sub> para as matrizes de frutos e raízes.....61

Figura 2- Gráfico de Pareto que expressa o efeito das variáveis do processo no rendimento de extração usando EAU das matrizes (a) frutos e (b) raízes .....64

Figura 3- Gráficos de contorno que expressam a influência das variáveis do processo no rendimento de extração usando EAU para matrizes de frutos (a) e raízes (b).....65

Figura 4- MEV imagens da raiz antes e depois da extração: (A) Natural; (B) Extração por Soxhlet; (C) EFS-CO<sub>2</sub>; (D) Maceração, e (E) EAU .....67

Figura 5- MEV imagens do fruto antes e depois da extração: (A) Natural; (B) Extração por Soxhlet; (C) EFS-CO<sub>2</sub>; (D) Maceração, e (E) EAU. (1) sementes e (2) cascas .....68

### **CAPÍTULO 4- ARTIGO 2- Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de compostos de diferentes partes aéreas de *Senecio brasiliensis*: Modelagem matemática e efeitos de parâmetros na qualidade do extrato**

Figura 1- Curvas cinéticas de extração de extratos obtidos de partes aéreas de *Senecio brasiliensis* por EFS-CO<sub>2</sub>: A) Folhas; B) Flores; C) Caules.....91

Figura 2- MEV imagem das matrizes de *Senecio brasiliensis* antes e depois das extrações: (A) antes da extração (matéria prima fresca); (B) extração por Soxhlet; (C) EFS-CO<sub>2</sub>; (1) Folhas;

(2) Flores; (3) Caules.....	93
Figura 3 - Principais classes de compostos de <i>Senecio brasiliensis</i> . Terpenóides (■); Alcalóides (□); Ácidos Graxos (▨); Álcool (■); Aldeídos (■); Alcanos acíclicos (■); Outras classes (■).....	97

**CAPÍTULO 5- ARTIGO 3 - Extração de compostos bioativos de *Senecio brasiliensis* usando tecnologias emergentes**

Figura 1- O gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de processo no rendimento de extração de <i>Senecio brasiliensis</i> usando EAU para (a) folha, (b) flor e (c) caule.....	116
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Figura S1- Gráficos de superfície de resposta sobre o rendimento de extração de <i>Senecio brasiliensis</i> usando EAU para (a) folha, (b) flor e (c) caule.....	118
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Figura 2- Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de processo no rendimento de extração de <i>Senecio brasiliensis</i> usando ELP para (a) folha, (b) flor e (c) caule. ....	120
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Figura 3- Microscopia eletrônica de varredura de matrizes de <i>Senecio brasiliensis</i> antes e depois das extrações: (A) antes da extração (matéria-prima fresca); (B) EAU; (C) ELP; (D) Folha de MHG. (1); (2) flor; (3) caule.....	135
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

**CAPÍTULO 6 – ARTIGO 4 - Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas e Líquido Pressurizado de *Solanum viarum***

Figura 1- Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de processo no rendimento de extração de <i>Solanum viarum</i> usando ELP para (a) fruto e (b) raiz .....	144
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

**CAPÍTULO 7- ARTIGO 5 - Avaliação da atividade antifúngica e herbicida dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum***

Figura 1- Inibição após 7 dias de <i>F. graminearum</i> e <i>S. sclerotiorum</i> por extratos das matrizes de de <i>Senecio brasiliensis</i> e <i>Solanun viarum</i> ; A: controle etanólico; B: extrato do caule de <i>Senecio brasiliensis</i> ; C: extrato de flor de <i>Senecio brasiliensis</i> , D: extrato de folha de <i>Senecio brasiliensis</i> , E: extrato de fruto de <i>Solanun viarum</i> , F: extrato da raiz de <i>Solanun viarum</i> .....	163
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

Figura 2- Inibição da germinação após 7 dias de aplicação dos extratos de <i>Senecio brasiliensis</i> e <i>Solanun viarum</i> em sementes de <i>Cucumis sativus</i> . A: Controle etanólico+água; B: extrato do caule de <i>Senecio brasiliensis</i> ; C: extrato de flor de <i>Senecio brasiliensis</i> , D: extrato de folha de <i>Senecio brasiliensis</i> , E: extrato de fruto de <i>Solanun viarum</i> , F: extrato da raiz de <i>Solanun viarum</i> .....	166
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Tabela 2.1 - Extratos vegetais com aplicabilidade na agricultura.....	35
Tabela 2.2 - Comparação entre as propriedades de gases, líquidos e fluidos supercríticos.....	43

### **CAPÍTULO 3- ARTIGO 1- Valorização do *Solanum viarum* Dunal por extração de compostos bioativos das raízes e frutos utilizando Ultrassom e CO<sub>2</sub> supercrítico**

Tabela 1- Comparação dos rendimentos de extração obtidos de <i>Solanum viarum</i> usando EFS – CO <sub>2</sub> e Soxhlet.....	60
Tabela 2- Rendimentos obtidos a partir dos frutos e raízes de <i>Solanum viarum</i> usando Ultrassom.....	62
Tabela 3- Composição química obtida por EFS-CO <sub>2</sub> e Soxhlet das matrizes frutos e raízes de <i>Solanum viarum</i> .....	70
Tabela 4- Composição química obtida por EAU e controle das matrizes frutos e raízes de <i>Solanum viarum</i> .....	74
Tabela 5- Atividades relatadas na literatura de alguns compostos encontrados neste trabalho.....	75

### **CAPÍTULO 4- ARTIGO 2 - Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de compostos de diferentes partes aéreas de *Senecio brasiliensis*: Modelagem matemática e efeitos de parâmetros na qualidade do extrato**

Tabela 1- Dados de entrada usados para ajustar os parâmetros de Sovová.....	84
Tabela 2- Comparação dos rendimentos de extração obtidos de <i>Senecio brasiliensis</i> usando EFS-CO <sub>2</sub> e Soxhlet.....	90
Tabela 3- Extração com EFS-CO <sub>2</sub> de <i>Senecio brasiliensis</i> : parâmetros ajustados usando o modelo de Sovová.....	95
Tabela 4- Compostos químicos obtidos por EFS-CO <sub>2</sub> e Soxhlet de diferentes matrizes de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	100

### **CAPÍTULO 5- ARTIGO 3 - Extração de compostos bioativos de *Senecio brasiliensis* usando tecnologias emergentes**

Tabela 1- Rendimentos das matrizes flor, folha e caule de <i>Senecio brasiliensis</i> obtidos por extração assistida por ultrassom usando um DCCR.....	115
Tabela 2- Rendimentos das matrizes flor, folha e caule de <i>Senecio brasiliensis</i> obtidas por extração com líquido pressurizado usando um DCCR.....	119
Tabela 3- Rendimentos das matrizes flor, folha e caule de <i>Senecio brasiliensis</i> obtidas por Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas.....	122
Tabela 4.1- Compostos químicos obtidos usando EAU para a folha de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	125
Tabela 4.2- Compostos químicos obtidos usando EAU para a flor de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	126
Tabela 4.3- Compostos químicos obtidos usando EAU para a caule de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	127
Tabela 5.1- Compostos químicos obtidos por ELP para a folha de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	128
Tabela 5.2- Compostos químicos obtidos por ELP para a flor de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	129
Tabela 5.3- Compostos químicos obtidos por ELP para caule de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	130
Tabela 6- Compostos químicos obtidos usando MHG para a folha, flor e caule de <i>Senecio brasiliensis</i> .....	131

### **CAPÍTULO 6- ARTIGO 4 - Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas e Líquido Pressurizado de *Solanum viarum***

Tabela 1- Rendimentos de matrizes fruto e raiz de <i>Solanum viarum</i> obtidas por ELP.....	143
Tabela 2 Rendimentos de matrizes fruto e raiz de <i>Solanum viarum</i> obtidas por extração de MHG.....	146

Tabela 3- Compostos químicos obtidos por ELP para o fruto e raiz de <i>Solanum viarum</i> .....	149
Tabela 4- Compostos químicos obtidos por hidrodifusão por micro-ondas e extração por gravidade para frutos e raízes de <i>Solanum viarum</i> .....	150

**CAPÍTULO 7- ARTIGO 5 - Avaliação da atividade antifúngica e herbicida dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum***

Tabela 1 – Principais rendimento e compostos obtidos de <i>Solanum viarum</i> e <i>Senecio brasiliensis</i> por Extração Assistida por Ultrassom.....	159
Tabela 2- Inibição do crescimento micelial de <i>Fusarium graminearum</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> por extratos de <i>Senecio brasiliensis</i> e <i>Solanum viarum</i> .....	162
Tabela 3- Inibição de germinação de sementes de <i>Cucumis sativus</i> por extratos de <i>Senecio brasiliensis</i> e <i>Solanum viarum</i> .....	165



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

MS	Metabólitos secundários
EFS	Extração com fluido supercrítico
EUS	Extração assistida por ultrassom
US	Ultrassom
MO	Micro-ondas
EMO	Extração por micro-ondas
ELP	Extração com líquidos pressurizados
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
HGM	Extração hidrodifusão e gravidade de micro-ondas
ROS	Espécies reativas de oxigênio
GRAS	Geralmente reconhecidos como seguros
CER	Taxa de extração constante
FER	Taxa decrescente de extração
CG/EM	Cromatografia gasosa com espectrofotometria de massas



## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 – APRESENTAÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
<b>1.2 OBJETIVOS.....</b>	<b>23</b>
<b>1.2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>23</b>
<b>1.2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>23</b>
<b>1.3 ESTRUTURA DA TESE DE DOUTORADO.....</b>	<b>24</b>
<b>CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>25</b>
<b>2.1 <i>Senecio brasiliensis</i>.....</b>	<b>25</b>
<b>2.2 <i>Solanum viarum</i>.....</b>	<b>28</b>
<b>2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DE EXTRATOS VEGETAIS.....</b>	<b>30</b>
<b>2.3.1 Metabólitos secundários.....</b>	<b>31</b>
<b>2.3.2 Potencial alelopático dos extratos vegetais com aplicabilidade na agricultura.....</b>	<b>34</b>
<b>2.4 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>2.4.1 Soxhlet.....</b>	<b>41</b>
<b>2.4.2 Maceração.....</b>	<b>42</b>
<b>2.4.3 Extração com fluido supercrítico.....</b>	<b>42</b>
<b>2.4.3.1 Cinética de extração.....</b>	<b>44</b>
<b>2.4.4 Ultrassom.....</b>	<b>45</b>
<b>2.4.5 Extração por Líquido Pressurizado.....</b>	<b>48</b>
<b>2.4.6 Micro-ondas.....</b>	<b>51</b>
<b>CAPÍTULO 3 – ARTIGO 1.....</b>	<b>54</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>56</b>
<b>Coleta e preparação da amostra.....</b>	<b>56</b>
<b>Extração por Soxhlet.....</b>	<b>56</b>
<b>Extração de CO<sub>2</sub> supercrítico (EFS-CO<sub>2</sub>).....</b>	<b>57</b>
<b>Extração assistida por ultrassom.....</b>	<b>57</b>
<b>Microscopia eletrônica de varredura.....</b>	<b>58</b>
<b>Caracterização química de extratos por cromatografia gasosa.....</b>	<b>58</b>

<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>Rendimento dos extratos por EFS-CO<sub>2</sub>.....</b>	<b>59</b>
<b>Extração Assitida por Ultrassom.....</b>	<b>62</b>
<b>Composição química.....</b>	<b>64</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIA.....</b>	<b>76</b>
<b>CAPÍTULO 4 – ARTIGO 2.....</b>	<b>83</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>84</b>
<b>2. Materiais e métodos.....</b>	<b>86</b>
<b>2.1 Preparação das amostras .....</b>	<b>86</b>
<b>2.2 Extração de Soxhlet.....</b>	<b>86</b>
<b>2.3 EFS-CO<sub>2</sub> .....</b>	<b>86</b>
<b>2.4 Modelagem matemática .....</b>	<b>87</b>
<b>2.5 Cromatografia gasosa - análise por espectrometria de massa .....</b>	<b>89</b>
<b>2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....</b>	<b>89</b>
<b>3. Resultados e discussão.....</b>	<b>89</b>
<b>3.1 Rendimento de extração.....</b>	<b>89</b>
<b>3.2 Curvas de extração e modelagem .....</b>	<b>91</b>
<b>3.3 Composição química dos extratos.....</b>	<b>96</b>
<b>4. Conclusão.....</b>	<b>99</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>103</b>
<b>CAPÍTULO 5 – ARTIGO 3.....</b>	<b>109</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>110</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>112</b>
<b>2.1 Preparação da amostra.....</b>	<b>112</b>
<b>2.2 Extração Assistida por Ultrassom .....</b>	<b>112</b>
<b>2.3 Extração por líquidos Pressurizados .....</b>	<b>112</b>
<b>2.4 Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas .....</b>	<b>113</b>
<b>2.5 Composição química .....</b>	<b>113</b>
<b>2.6 Microscopia eletrônica de varredura .....</b>	<b>114</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>114</b>

<b>3.1 Extração Assistida por Ultrassom .....</b>	<b>114</b>
<b>3.2 Extração Etanólica .....</b>	<b>118</b>
<b>3.3 Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas .....</b>	<b>122</b>
<b>3.4 Composição química GC-MS .....</b>	<b>123</b>
<b>4.CONCLUSÃO.....</b>	<b>135</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>136</b>
<b>CAPÍTULO 6 – ARTIGO 4.....</b>	<b>140</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>140</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>141</b>
<b>2.1 Preparação de amostras.....</b>	<b>141</b>
<b>2.2 Técnicas de extração .....</b>	<b>141</b>
<b>2.3 Caracterização de amostras.....</b>	<b>142</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>142</b>
<b>3.1 Rendimentos de extração .....</b>	<b>142</b>
3.1.1 Extrações Etanólicas.....	142
3.1.2 Extração Hidrodifusão e gravidade de Micro-ondas (MHG) .....	145
<b>3.2 Composição química por GC-MS.....</b>	<b>146</b>
<b>4. Conclusão.....</b>	<b>151</b>
<b>REFERÊNCIA.....</b>	<b>152</b>
<b>CAPÍTULO 7 – ARTIGO 5.....</b>	<b>156</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>156</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>158</b>
<b>2.1 Preparação das amostras .....</b>	<b>158</b>
<b>2.2 Obtenção dos extratos .....</b>	<b>158</b>
<b>2.3 Determinação da atividade antifúngica.....</b>	<b>159</b>
<b>2.4 Atividade bioherbicida - Bioensaios em Pré-emergência.....</b>	<b>160</b>
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>160</b>
<b>3.1 Atividade antifúngica .....</b>	<b>160</b>
<b>3.2 Atividade herbicida em pré-emergência.....</b>	<b>163</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>166</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>166</b>

<b>CAPÍTULO 8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>173</b>
<b>8.1 DISCUSSÃO GERAL .....</b>	<b>173</b>
<b>8.2 CONCLUSÕES GERAIS .....</b>	<b>176</b>
<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>177</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>178</b>

## CAPÍTULO 1 – APRESENTAÇÃO

### 1.1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade brasileira, uma das maiores do mundo, é considerada como fonte de substâncias biologicamente ativas e apresenta imenso potencial para a produção de compostos secundários (MARANGONI et al., 2012). Nos últimos anos, houve aumento significativo no uso de substâncias ativas encontradas em extratos vegetais devido às suas aplicações nos setores farmacêutico, alimentício e agrícola (atividades sobre insetos, plantas daninhas e fungos) (MELO et al., 2014; KULKARNI et al., 2014; ZABOT et al., 2016), porém algumas matrizes vegetais representam potencialmente novas aplicações cujo conhecimento, na maioria dos casos, foi empiricamente estabelecido ou ainda carece de cobertura científica (MELO et al., 2014).

Dentre as espécies que apresentam compostos alelopáticos presentes no Estado do Rio Grande do Sul, encontram-se o *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*. São consideradas plantas daninhas de pastagem e altamente tóxicas, pois quando ingeridas pelo gado ou outros tipos de rebanho podem ser letais (MILNER et al., 2011; PANZIERA et al., 2018). O *Senecio brasiliensis* Less. é uma espécie nativa do Brasil, popularmente conhecida como “Maria mole” (MACEDO et al., 2017). A sua toxicidade se dá devido à presença de alcalóides pirrolizidínicos, fitotoxinas naturais encontradas em muitas plantas em todo o mundo (ELIAS et al., 2011), porém também é utilizada na medicina tradicional, principalmente em forma de infusões para dores de estômago (VENDRUSCOLO et al., 2006). O *Solanum viarum* Dunal pertence à família Solanaceae. É uma planta nativa da América do Sul, conhecida popularmente no Brasil como “joá-bravo” e sua toxicidade também foi relatada pelo acúmulo de altos níveis de alcaloides nas folhas e frutos (BRAGUINI et al., 2018).

Além de importantes metabólitos primários, como lipídios, carboidratos e aminoácidos, as plantas também sintetizam ampla gama de metabólitos secundários (THAKUR et al., 2019). O metabolismo secundário vegetal compreende uma variedade de metabólitos que evoluíram a fim de promover a sobrevivência das plantas fornecendo proteção contra estresses gerais, como fatores ambientais, insetos, herbívoros, predadores, patógenos e radiação ultravioleta (MACEDO et al., 2017). Alguns metabólitos secundários (MS) podem interferir no crescimento e no desenvolvimento de sistemas biológicos, sendo considerados compostos alelopáticos. Estes compostos (aleloquímicos) podem ser usados diretamente para a formulação de defensivos

agrícolas ou até mesmo alterados a fim de melhorar sua ação biológica (BATISH et al., 2012; SADGROVE et al., 2015; MAHDAVIKIA et al., 2017).

O tipo de extração a ser utilizado é uma consideração importante na extração de metabólitos secundários (GOLTZ et al., 2018). Tradicionalmente a extração é realizada principalmente por métodos de Soxhlet e maceração, porém essas técnicas requerem grandes volumes de solvente e alta demanda de tempo, além de utilizar solventes orgânicos altamente tóxicos (GUJAR et al., 2010; CHI et al., 2016; PATIL et al., 2017). Tecnologias emergentes de extração estão sendo utilizadas com sucesso para alcançar uma extração “verde” e sustentável (SOQUETTA et al., 2018). Entre elas estão: extração com fluido supercrítico (EFS) (LIMA et al., 2019), extração assistida por ultrassom (EUS) (WEI et al., 2019), micro-ondas (MO) e extração com líquidos pressurizados (ELP) (SANTOS et al., 2019a).

A EFS permite minimizar alterações químicas e degradação de compostos sensíveis ao calor. O extrato é obtido em temperaturas relativamente baixas e livre de resíduos de solventes orgânicos (BOZAN & TEMELLI, 2002; YIN et al., 2005; SPARKS et al., 2006). O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) é o solvente mais utilizado na EFS, por permitir operações com pressões relativamente baixas e temperaturas próximas ao ambiente. Convém ressaltar que o CO<sub>2</sub> apresenta algumas vantagens de utilização, pois é reconhecido como solvente seguro (MANTELL et al., 2013), inerte, não tóxico (baixas concentrações), não inflamável, está facilmente disponível com elevada pureza e apresenta baixo custo (BRUNNER, 2005; POULIOT et al., 2014).

A extração assistida por ultrassom tem sido amplamente desenvolvida na indústria nos últimos anos, provavelmente porque é uma tecnologia-chave para atingir o objetivo da química "verde" e é sustentável (ADAM et al., 2012). Esta técnica têm sido considerada capaz de resolver problemas associados aos métodos convencionais de extração, uma vez que o processo simplifica as condições de manuseio e processamento, proporciona maior pureza do produto final, reduz a quantidade de solvente, bem como a energia necessária em comparação com métodos convencionais, trabalhando a temperaturas mais baixas ou evitando a dispendiosa eliminação do solvente (CHEMAT et al., 2011).

A ELP apresenta inúmeras características que a tornam um excelente substituto para os métodos tradicionais. O uso de temperatura e pressão elevadas durante a extração não apenas melhora o rendimento da extração, mas também diminui o tempo e o consumo de solvente (MUSTAFA et al., 2011). A extração por micro-ondas também ganhou enorme popularidade como



um processo favorável ao meio ambiente para a extração dos metabólitos secundários ( YU et al., 2013; FILLY et al., 2014), melhorando a quantidade do extrato, reduzindo o tempo de extração, diminuindo o custo e o consumo de energia. Dentro do contexto do uso de MO, a técnica de extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas (HGM) (CHEMAT et al., 2017a), alavancou os limites da extração assistida por micro-ondas para um processo inovador, rápido, eficiente e ecológico, sem qualquer degradação na qualidade do extrato (GONZÁLEZ et al., 2013; LÓPEZ-HORTAS et al., 2016; BENMOUSSA et al., 2018).

Com base em todos os aspectos expostos, considerando o uso de forma empírica por agricultores familiares das duas espécies estudadas e que a literatura apresenta ínfimos registros de pesquisas sobre *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*, surgiu o interesse em investigar estas espécies de plantas. Assim, neste trabalho foram avaliadas diferentes metodologias de extração sobre os seguintes resultados: rendimento dos extratos obtidos, composição química dos extratos das diferentes matrizes vegetais e suas possíveis bioatividades fúngica e herbicida.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Esta Tese de Doutorado tem como objetivo geral extrair, caracterizar e investigar o potencial alelopático de extratos das plantas *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* utilizadas de forma empírica na agricultura.

### 1.2.2 Objetivos específicos

Dentro deste contexto, os objetivos específicos foram delineados:

- Obter extratos a partir das plantas *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* utilizando diferentes metodologias extrativas: fluido supercrítico, ultrassom, hidrodifusão por micro-ondas e gravidade, líquidos pressurizados, Soxhelt e maceração.
- Investigar as condições ótimas para as extrações das substâncias presentes nas matrizes raízes e frutos de *Solanum viarum* e flores, folhas e caules de *Senecio brasiliensis*;
- Analisar (caracterizar, identificar e quantificar) os metabólitos secundários dos extratos das plantas;

- Avaliar o potencial alelopático dos extratos obtidos em planta bioindicadora (*Cucumis sativus*) e fungos (*Fusarium graminearum*, *Sclerotinia sclerotiorum*).

### 1.3 ESTRUTURA DA TESE DE DOUTORADO

Nesta Tese de Doutorado, as etapas de desenvolvimento estão apresentadas em 8 Capítulos:

Capítulo 1: são apresentados a introdução, os objetivos e a estrutura desta Tese.

Capítulo 2: apresenta-se uma breve revisão da literatura, evidenciando os conceitos fundamentais que norteiam este trabalho.

Capítulo 3: é apresentado o primeiro artigo “Valorização do *Solanum viarum* Dunal por extração de compostos bioativos das raízes e frutos utilizando ultrassom e CO<sub>2</sub> supercrítico”. Neste Capítulo estão descritas as metodologias e os resultados e discussões para a extração assistida por ultrassom e extração com fluido supercrítico de *Solanum viarum*.

Capítulo 4: é apresentado o segundo artigo “Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de compostos de diferentes partes aéreas de *Senecio brasiliensis*: Modelagem matemática e efeitos de parâmetros na qualidade do extrato”. Neste Capítulo estão descritos os materiais, métodos e resultados e discussões para a extração com fluido supercrítico de *Senecio brasiliensis*.

Capítulo 5: é apresentado o terceiro artigo “Extração de compostos bioativos de *Senecio brasiliensis* usando tecnologias emergentes”. Neste Capítulo estão descritos os materiais, métodos e resultados e discussões para a extração assistida por ultrassom, extração com líquido pressurizado e hidrodifusão e gravidade por micro-ondas da parte aérea de *Senecio brasiliensis*, com foco em dois alcalóides pirrolizidínicos: integerrimina e senecionina.

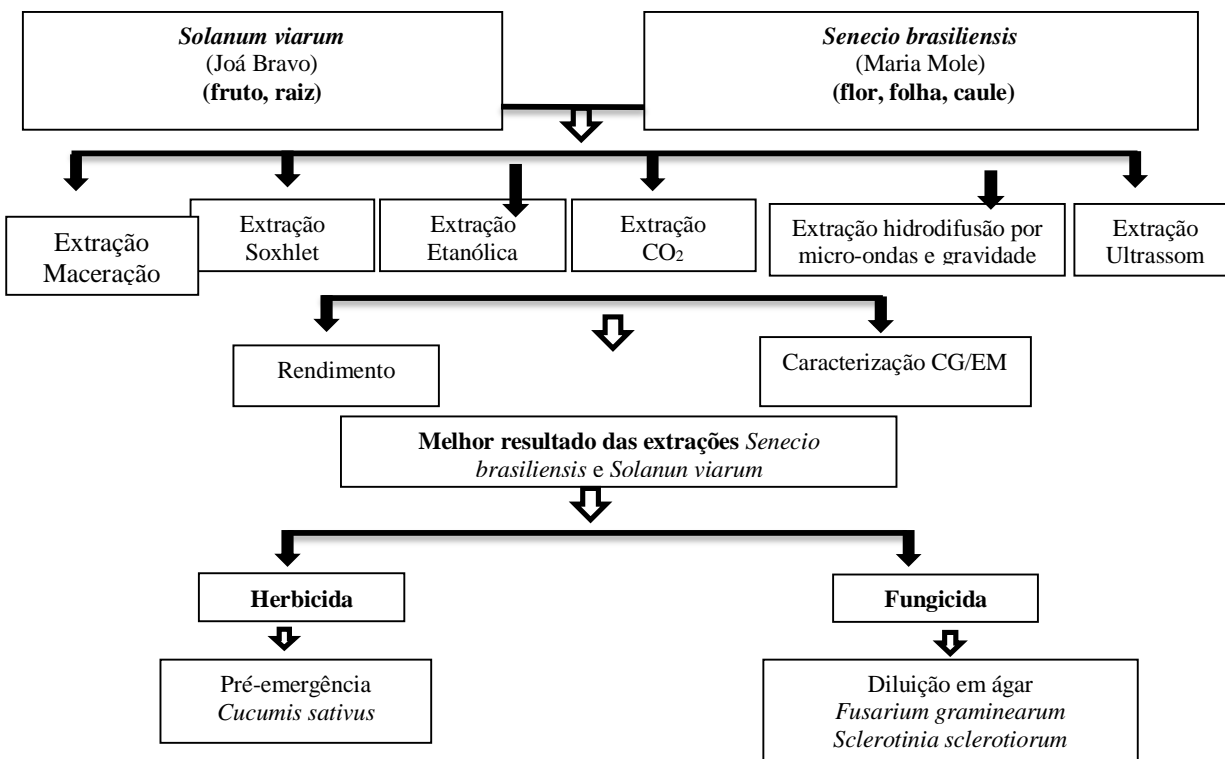
Capítulo 6: é apresentado o quarto artigo: Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas e Líquido Pressurizado de *Solanum viarum*. Nesta seção estão descritos os materiais e métodos e resultados e discussões para extração por Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas e Líquido Pressurizado, da parte aérea de *Solanum viarum*.

Capítulo 7: é apresentado o quinto artigo “Avaliação da atividade antifúngica e herbicida dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*”. Neste Capítulo estão descritos os materiais, métodos e resultados e discussões para a avaliação antifúngica e herbicida dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*.

Capítulo 8: neste Capítulo apresentam-se as considerações finais: discussão e conclusão geral da Tese.

A Figura 1.1 apresenta um fluxograma organizacional do presente trabalho, com intuito de aprimorar o entendimento das etapas realizadas na consecução desta Tese de Doutorado.

Figura 1.1- Fluxograma das atividades realizadas na Tese de Doutorado



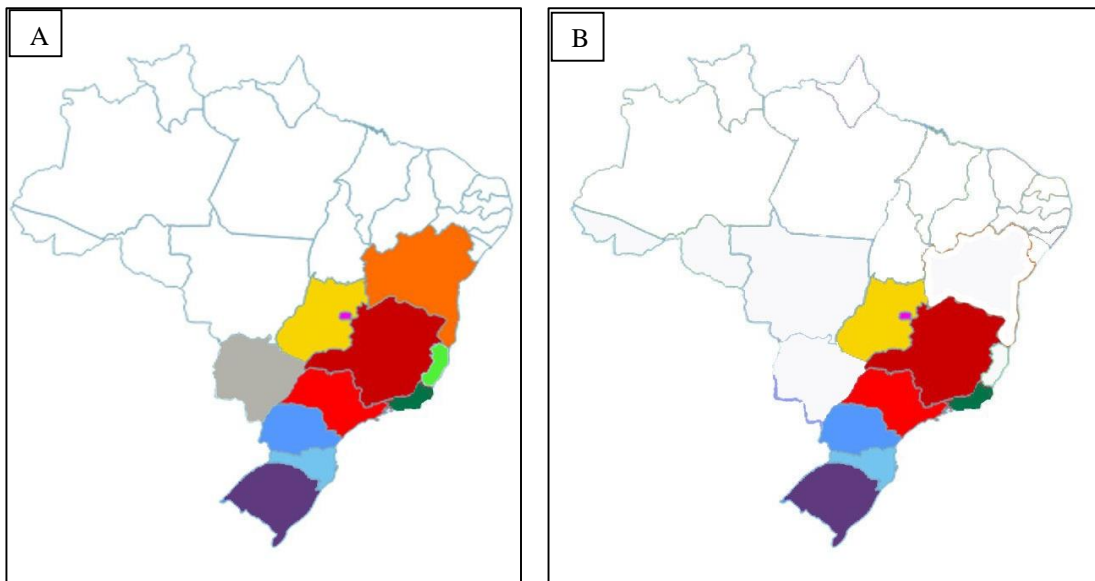
## CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 *Senecio brasiliensis*

A família Asteraceae encontra-se amplamente distribuída pelo mundo com, aproximadamente, 1.700 gêneros e 25.000 espécies. O gênero *Senecio* possui em torno de 1.500 espécies sendo 60 destas encontradas principalmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (OLIVEIRA, 2015; ROMO-ASUNCIÓN et al., 2016). Segundo dados da Flora do Brasil, as 60 espécies existentes deste gênero catalogadas no Brasil têm sua distribuição geográfica confirmada no: Nordeste (Bahia), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul), Sudeste (Espírito Santos, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo), Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa

Catarina), com domínios fitogeográficos na Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pampa (Figura 2.1). Ressalva-se que no Rio Grande do Sul são encontradas 24 espécies de *Senecio*, entre elas o *Senecio brasiliensis*.

Figura 2.1- Distribuição do gênero *Senecio* sp. (A) e distribuição da espécie *Senecio brasiliensis* no Brasil (B).



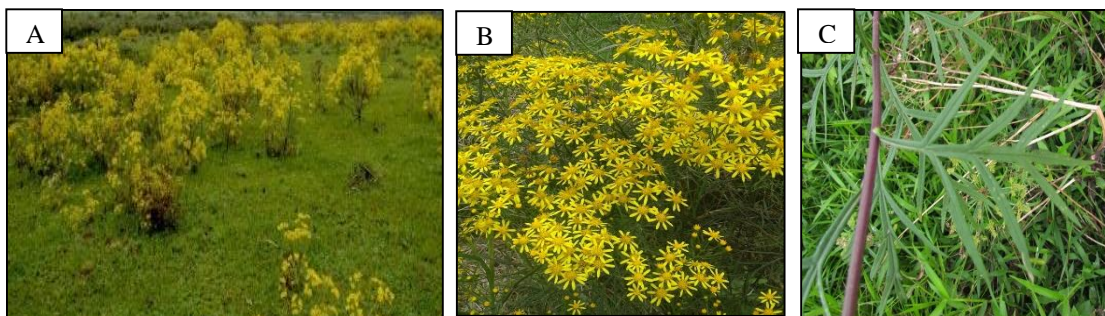
Fonte: Adaptado de *Senecio* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

*Senecio brasiliensis* pertence ao gênero *Senecio* e é uma espécie vegetal nativa, não endêmica, popularmente conhecida como “Flor-das-almas”, “Margaridinha” ou “Maria mole” (SOUZA et al., 2015). Geralmente está presente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, além de também ocorrer no Uruguai, no Paraguai, e na Argentina (SANDINI et al., 2013; TELES, 2015; PILATI et al., 2007).

Durante os meses de maio a agosto a espécie passa pelo seu período de brotação, florescendo entre os meses de outubro a novembro. É um subarbusto, perene, herbáceo, ereto e que pode chegar a 2 metros de altura (Figura 2.2), possui caule liso, cilíndrico, ramificado na base e parte superior. As folhas são alternadas, ocorrem ao longo do caule e dos ramos em disposição helicoidais, não possuem pecíolo, com o limbo profundamente recortado, podendo chegar até 25 cm de comprimento. A face inferior das folhas é branca pubescente e a superior verde e sem pilosidade. As inflorescências, denominadas de corimbo, estão situadas nas partes terminais dos

ramos, com flores amarelas odoríferas. As unidades de dispersão são os frutos (aquênios), cilíndricos e de cor cinza ou pardo escuro, com papilhos pilosos, facilmente dispersos pelo vento (SANDINI et al., 2013; LORENZI et al., 2014; OLIVEIRA, 2015; BRIGHENTI et al., 2017).

Figura 2.2- Aspectos da Maria mole de ocorrência espontânea em Getúlio Vargas/RS. (A) predominância da planta em pastagem, (B) inflorescência e (C) folha e caule.



Fonte: A autora.

Possui grande habilidade de dispersão e adaptação tanto em pastagens como em campos nativos, podendo ser um grande problema para a pecuária da Região Sul (BRIGHENTI et al., 2017). O *Senecio brasiliensis* é relatado por ser uma planta tóxica, sendo responsável por grande parte dos prejuízos econômicos em animais de produção, principalmente em equinos e bovinos. Apesar da baixa palatabilidade, o consumo pelos bovinos no Rio Grande do Sul ocorre em maior frequência no outono e inverno, período no qual a disponibilidade de pastagem diminui e as plantas estão em brotação (KARAM et al., 2011; SANDINI et al., 2013).

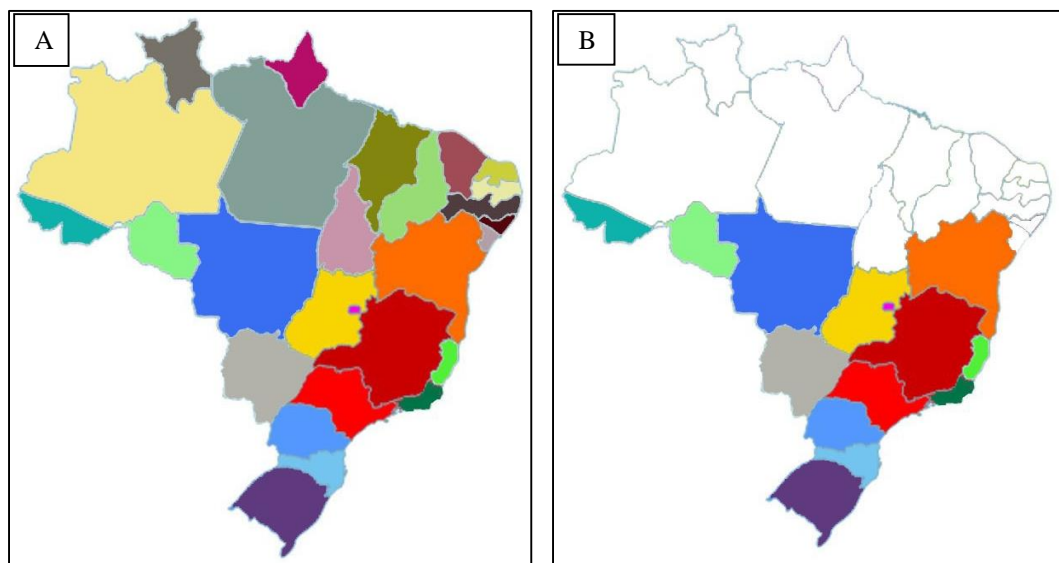
Espécies do gênero *Senecio* são conhecidas pela produção de compostos como alcalóides, sesquiterpenos e flavonoides (ROMO DE VIVAR et al., 2007) que exercem uma variedade de atividades biológicas, incluindo: efeitos antibacterianos, antioxidantes, antivirais, antitumorais, analgésicos e anti-inflamatórios (GONZÁLEZ et al., 2013; MANUBOLU et al., 2013; WANG et al., 2013). A toxicidade causada por esse gênero vegetal ocorre devido à presença dos alcalóides pirrolizidínicos (ELIAS et al., 2011), que são fitotoxinas naturais encontradas em muitas plantas em todo o mundo (VENDRUSCOLO et al., 2006). Os maiores teores de alcalóides são encontrados quando a planta está em período de floração, ocorrendo grande variação da quantidade do princípio tóxico nas diferentes partes da planta (KARAM et al., 2004).

Apesar de sua toxicidade, esta planta é amplamente utilizada na medicina popular brasileira como anti-inflamatório e no tratamento de úlceras gástricas e dor de estômago ( VENDRUSCOLO et al., 2006; MACEDO et al., 2017). Convém ressaltar que os estudos relatados na literatura referentes aos constituintes químicos de *Senecio brasiliensis* se detém praticamente na identificação de alcalóides pirrolizidínicos, entre eles integerrimina e senecionina (TRIGO et al., 2003; TOMA et al., 2004; ELIAS et al., 2011; SOUZA et al., 2015). Porém, levando em consideração o uso desta planta para fins terapêuticos pela população e seu uso empírico para controle de plantas daninhas, é necessário entender e conhecer melhor seus componentes químicos.

## 2.2 *Solanum viarum*

As *Solanaceae* são uma família cosmopolita de considerável importância econômica, com seu centro de diversificação na América do Sul (SCHMID et al., 2001). Ela inclui 92 gêneros e cerca de 2.300 espécies, sendo o *Solanum* L. o maior gênero com cerca 1.400 espécies. Segundo dados da Flora do Brasil (2020) são catalogadas 283 espécies no Brasil, tendo sua distribuição geográfica confirmada no Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santos, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina), com domínios fitogeográficos na Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Figura 2.3). Ressalva-se que no Rio Grande do Sul são encontradas 66 espécies de *Solanum*.

Figura 2.3- Distribuição do gênero *Solanum* sp. (A) e distribuição da espécie *Solanum viarum* no Brasil (B).



Fonte: Adaptado de *Solanum* in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

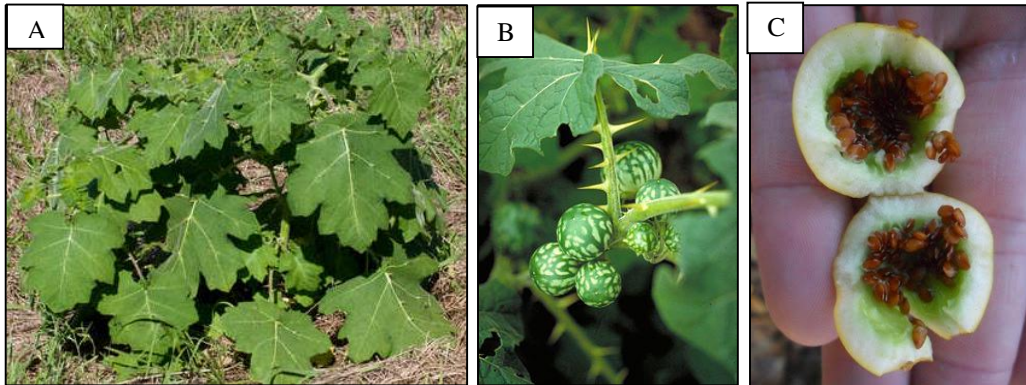
*Solanum viarum* Dunal é uma planta nativa da América do Sul, conhecida popularmente no Brasil como “joá-bravo” (BRAGUINI et al., 2018). Apresentam-se como erva de folha larga, subarbusto ou arbustos anuais (KAUSAR et al., 2018). É considerada uma planta daninha de pastagem e é altamente tóxica, pois quando ingerida pelo gado ou outros tipos de rebanho pode ser letal (MENTZ et al., 1997; MILNER et al., 2011).

Suas folhas e caules são cobertos por espinhos, porém o gado alimenta-se do fruto que é tóxico (CUDA et al., 2006; MILNER et al., 2011). Apresenta característica invasora, cresce inclusive em locais inóspitos, apresentando hábito agressivo. A dispersão das sementes ocorre principalmente por via zoocórica, alta capacidade reprodutiva, resistência ao controle químico, formação de grandes colonizações ocupando extensas áreas e, com frequência, infesta pastagens, terrenos baldios, pomares e beiras de estrada (LORENZI, 2000).

É uma planta perene de 0,5 a 2 m de altura, muito ramificada (Figura 2.4). As folhas têm 6 a 20 cm de comprimento, 6 a 15 cm de largura e são cobertas por pêlos curtos. Sua inflorescência é cimosa, com poucas flores e essas são brancas com cinco pétalas recurvadas. O fruto é carnoso, globoso, com 1 a 3 cm de diâmetro, quando imaturos sua coloração é esverdeada com manchas esbranquiçadas, muito semelhante a uma melancia e quando maduros apresentam-se lisos,

redondos, amarelos, com uma polpa verde-clara e perfumada (SOARES, 2008; CSURHES, 2009; KAUSAR et al., 2018).

Figura 2.4- Aspectos do Joá bravo de ocorrência espontânea em Getúlio Vargas/RS. (A) estado vegetativo, (B) frutos e espinhos e (C) parte interna do fruto.



Fonte: A autora.

Muitas plantas da família Solanaceae, incluindo o *Solanum viarum*, apresentam em sua constituição química alcaloides e esteroides como a solasodina, que apresenta várias propriedades medicinais: é utilizada como cardiotônico, antifúngico, antiespermatogênico, antiandrogênico, imunomodulador, anticâncer, anti-inflamatório, anticonceptivo, antimicrobiano e como antipirético (JARALD et al., 2008; PATEL et al., 2013). Por essa razão além de ser considerada uma planta daninha tóxica, também é uma planta medicinalmente importante (PANDEY et al., 2018). Kausar et al. (2018), relataram outros compostos presentes nas folhas de *Solanum viarum* como derivados do ácido cafeoilquínico, ácido 5-cafeoil, 3-malonil-5-cafeoil-[4-(1-beta- [6-(5-cafeoil) quinato] glucopiranosil]] e ácido quínico. Apenas um estudo com frutos de *Solanum viarum* foi encontrado na literatura até o momento, onde foi investigada a toxicidade em *A. salina*, o qual foi altamente tóxico. Esses autores também descrevem altas porcentagens de polifenóis e taninos. Porém não há descrição de outros compostos, concluindo que os frutos são altamente tóxicos, podendo ser um risco ao gado por estar disponível nas pastagens (BRAGUINI et al., 2018).

### 2.3 COMPOSTOS BIOATIVOS DE EXTRATOS VEGETAIS



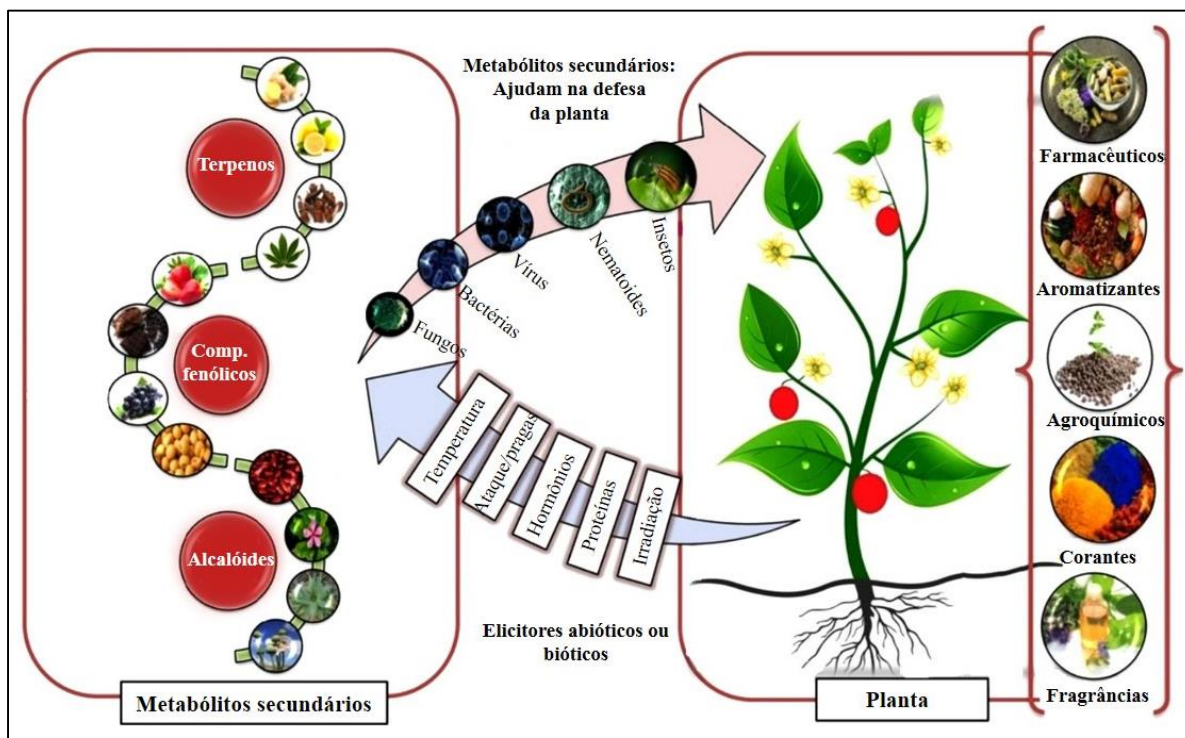
### 2.3.1 Metabólitos secundários

O metabolismo vegetal consiste em um conjunto de reações que ocorrem em cada célula que visam à produção de energia através da adenosina trifosfato e biossíntese de substâncias indispensáveis à sua sobrevivência (CAPASSO et al., 2011). Os compostos químicos obtidos são chamados de metabólitos, que podem ser classificados como primários ou secundários. Os metabólitos primários são essenciais ao crescimento e ao desenvolvimento das plantas, como os carboidratos, aminoácidos, proteínas e lipídios. Já os metabólitos secundários (MS) estão relacionados aos processos adaptativos de defesa das plantas sendo considerados produtos finais (ANARAT-CAPPILLINO et al., 2014).

Os MS das plantas não têm papel significativo na manutenção dos processos fundamentais da vida das plantas, mas desempenham um papel reconhecido na interação da planta com o meio ambiente e também atuam como defensivos químicos (RAMAKRISHNA et al., 2011). Eles desempenham um papel importante na proteção contra insetos, pragas, herbívoros, fitopatógenos e adaptação das plantas ao meio ambiente (THAKUR et al., 2019), contribuindo também para os odores, sabores e cores específicas das plantas (RAMAKRISHNA et al., 2011).

Os MS também são muito utilizados pelos seres humanos como medicamentos, aromatizantes, produtos farmacêuticos, agroquímicos, fragrâncias, corantes, biopesticidas, aditivos alimentares e drogas. Muitas das drogas vendidas atualmente são modificações sintéticas simples das substâncias naturalmente obtidas (JAMWAL et al., 2018). Ressalva-se que a acumulação de MS ocorre frequentemente nas plantas quando submetidas a várias tensões, eliciadores ou moléculas sinalizadoras. Vários fatores físicos ou químicos e microbianos, atuam como elicitores abióticos ou bióticos, o que acaba levando a um aumento na síntese de MS (Figura 2.5) (GHORBANPOUR et al., 2013).

Figura 2.5- Elucidação da síntese se metabólitos secundários.



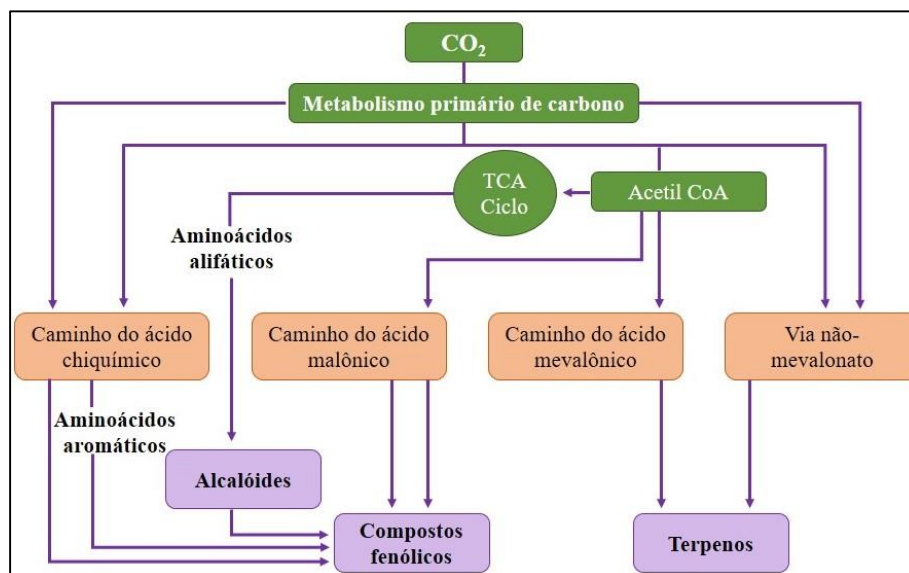
Fonte: Adaptado de Jamwal et al. (2018).

As plantas sintetizam um grande número de diferentes MS (MACEDO et al., 2017; WANG et al., 2019). Estima-se que mais de 50.000 metabólitos são conhecidos e descritos na literatura (WIANOWSKA et al., 2019). Os MS foram convencionalmente divididos em três grandes categorias: alcalóides, terpenóides e fenólicos (Figura 2.5) (ZAYNAB et al., 2018), os quais surgem biogeneticamente a partir de quatro vias principais: via do ácido chiquímico, via do ácido malónico, via do ácido mevalónico e via do não-mevalonato (Figura 2.6) (AZMIR et al., 2013).

Do ponto de vista biológico, os alcalóides, em seu sentido mais amplo, são compostos químicos heterocíclicos biologicamente ativos contendo nitrogênio. Possuem propriedades farmacológicas e funções ecológicas significativas (ANISZEWSKI et al., 1994). São produzidos por aminoácidos aromáticos (provenientes da via do ácido chiquímico) e por aminoácidos alifáticos (provenientes do ciclo do ácido tricarboxílico) (AZMIR et al., 2013), podendo estar presentes em todas as partes da planta, ou confinados a tecidos específicos, como raízes e sementes. Suas funções ecologicamente importantes incluem a proteção de plantas contra pragas e herbívoros, a atração de

insetos para a polinização e são compostos importantes do ponto de vista farmacológico (TAKSHAK et al., 2019).

Figura 2.6 - Vias gerais de produção de metabólitos secundários.



Fonte: Adaptado de Azmir et al. (2013).

Os terpenoides são compostos lipossolúveis, como os isômeros inter-conversíveis isopentenil pirofosfato e dimetilalilpirofosfato formando seus diversos compostos, apresentam diversas atividades biológicas, sendo de grande importância para a dieta humana (JAMWAL et al., 2018). São uma das classes mais amplas e diversificadas dos MS (JAMWAL et al., 2018). Exemplo destes são os monoterpenos (limoneno, linalol, cânfora, borneol, mirceno, geraniol), sesquiterpenos (Germacreno D, artemisinina) e tetraterpenoides (carotenoides que são um grupo de cerca de 700 pigmentos lipofílicos) (TAKSHAK et al., 2019). Os compostos fenólicos, são produtos da via dos fenilpropanoides. São sintetizados através da via do ácido chiquímico e da via do ácido malônico (AZMIR et al., 2013), sendo onipresentes nas plantas e, como tal, têm sido o grupo de compostos mais amplamente estudado. Eles possuem propriedades antioxidantes, proporcionando proteção contra danos oxidativos nas membranas. Também estão envolvidos na polinização, crescimento, reprodução e proteção das plantas (SCHREINER et al., 2012). Os flavonoides formam a maior subcategoria de compostos fenólicos e ainda estão subdivididos em

seis classes principais: flavonas, isoflavonas, flavonois ou catequinas, flavononas e antocianidinas (BRAHMACHARI et al., 2006).

### **2.3.2 Potencial alelopático dos extratos vegetais com aplicabilidade na agricultura**

Os aleloquímicos são resultantes do metabolismo secundário de plantas, algas, bactérias e fungos e são responsáveis por produzir os efeitos alelopáticos sobre o metabolismo de espécies receptoras (TAIZ et al., 2013). Segundo Amri et al. (2013), a alelopatia é a ciência que estuda processos nos quais compostos biologicamente ativos de plantas e microrganismos estão envolvidos, afetando o crescimento e o desenvolvimento de sistemas biológicos. Para Mahdavia et al. (2017), os aleloquímicos são geralmente considerados como produtos secundários ou produtos residuais das principais vias metabólicas nas plantas que contêm compostos complexos.

MS geralmente compreendem aleloquímicos que atuam através das vias metabólicas de plantas superiores e o grau em que os aleloquímicos se tornam tóxicos depende de fatores como sua concentração, idade, clima, estado metabólico da planta e várias condições ambientais (ALIPOUR et al., 2019). Os compostos de plantas são degradados rapidamente em luz solar e no solo, limitando seu impacto no meio ambiente, para que possam ter um papel efetivo na agricultura sustentável (RIOBA et al., 2017). Assim, a atividade dos aleloquímicos dos extratos vegetais tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e fungicidas (defensivos agrícolas) (BATISH et al., 2012; SADGROVE et al., 2015; MAHDAVIKIA et al., 2017), cujo uso intensivo e indiscriminado pode representar implicações negativas ao ambiente, à saúde humana e animal, além de representar uma parcela significativa dos custos de produção e da seleção de biotipos tolerantes e resistentes (JABRAN et al., 2015).

Na tentativa de reduzir o uso de pesticidas sintéticos, foram e estão sendo realizadas extensas investigações sobre a possível exploração de compostos vegetais como produtos comerciais naturais, que são seguros para os seres humanos e o meio ambiente. De fato, a busca por compostos naturais e métodos de manejo como alternativas aos pesticidas clássicos tornou-se um campo de pesquisa intenso e produtivo (AMRI et al., 2017), pois devido à diversidade estrutural e às atividades biológicas desenvolvidas podem ser usados para o desenvolvimento de pesticidas bioquímicos orgânicos baseados na estrutura das fitotoxinas naturais (DAYAN et al., 2014).

A Tabela 2.1 apresenta alguns dos inúmeros trabalhos realizados a partir de extratos vegetais mostrando seu potencial para o controle de fungos fitopatogênicos (inibição do

crescimento micelial e germinação de esporos dos fungos), insetos e plantas daninhas (germinação de sementes).

Tabela 2.1 – Extratos vegetais com aplicabilidade na agricultura.

<b>Planta</b>	<b>Efeitos</b>	<b>Alvo</b>	<b>Referências</b>
<i>Sesamum indicum</i>	Herbicida	<i>Cyperus rotundus</i>	HUSSAIN et al., 2017
<i>Calotropis procera</i>	Herbicida	<i>Brassica oleracea</i>	GULZAR et al., 2017
<i>Citrus sinensis</i> e <i>Citrus aurantium</i>	Herbicida	<i>Heliantus annuus</i> , <i>Portulaca oleracea</i> , <i>Lupinus albus</i> e <i>Malva parviflora</i>	EL SAWI et al., 2019
<i>Amaranthus</i>	Herbicida	<i>Lactuca sativa</i>	CARVALHO et al., 2019
<i>Eucalyptus grandis</i>	Herbicida	<i>Microcystis aeruginosa</i>	ZHAO et al., 2019
<i>Melaleuca cajuputi</i>	Herbicida	<i>Echinochloa crus-galli</i>	KUEH et al., 2019
<i>Lippia multiflora</i> <i>Moldenke</i> e <i>Ziziphus mucronata</i> Willd.	Fungicida	<i>Cercospora arachidicola</i>	KOÏTA et al., 2017
<i>Cuminum cyminum</i> L.	Fungicida	<i>Valsa mali</i>	WANG et al., 2017
<i>Aloe vera</i>	Fungicida	<i>Fusarium oxysporum</i> f. Sp. <i>Radicis-lycopersici</i> , <i>Phaeomoniella chlamydospora</i> , <i>Phaeoacremonium aleophilum</i> e <i>Sporisorium scitamineum</i>	PINTOS et al., 2018
<i>Thyme</i> e <i>Dill</i>	Fungicida	<i>Colletotrichum nymphaeae</i>	WEISANY et al., 2019
<i>Eucalyptus camaldulensis</i> , <i>Vitex agenus-castus</i> e <i>Matricaria chamomilla</i>	Fungicida	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i> e <i>Rhizoctonia solani</i>	SALEM et al., 2019
<i>Lantana câmara</i>	Fungicida	<i>Puccinia triticina</i>	DRAZ et al., 2019
<i>Eclipta alba</i>	Fungicida	<i>Fusarium thapsinum</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Epicoccum sorghinum</i> e <i>Curvularia luneta</i>	BOREGOWDA et al., 2019
<i>Corymbia</i> spp. e <i>Eucalyptus</i> spp.	Inseticida	<i>Plutella xylostella</i>	FILOMENO et al., 2017
<i>Eucalyptus</i> , <i>Bakayan</i> , <i>Chilli</i> , <i>Thyme</i> e <i>Onion</i>	Inseticida	<i>Helicoverpa armigera</i> Hub.	USMAN, 2018
<i>Rollinia mucosa</i>	Inseticida	<i>Corythucha gossypii</i>	RIVERA et al., 2018
<i>Veratrum nigrum</i>	Inseticida	<i>Blattella germânica</i>	CAI et al., 2019
<i>Piper methysticum</i>	Inseticida	<i>Crocidolomia pavonana</i>	JOHANA et al., 2018

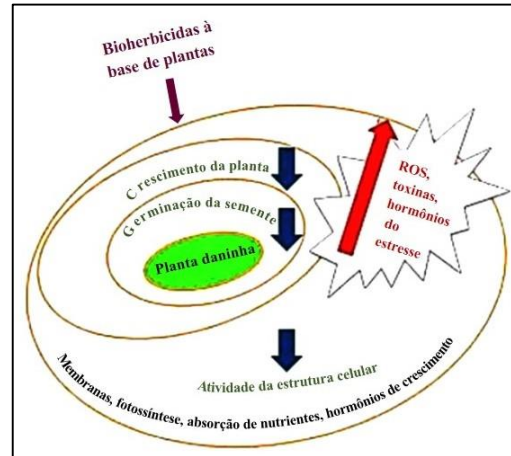
<i>Diplazium esculentum</i>	Inseticida	<i>Culex</i>	HALIMATUSSAKDIA H et al., 2018
<i>Allium sativum</i>	Fungicida	<i>Penicillium notatum</i>	ARASU et al., 2019
<i>Syzygium aromaticum</i>	Fungicida	<i>Pythium aphanidermatum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> e <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	MA et al., 2019
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Inseticida	<i>Spodoptera littoralis</i>	BENELLI et al., 2019
<i>Eucalyptus</i> e <i>Corymbia</i>	Inseticida	<i>Hypothenemus hampei</i>	REYES et al., 2019
<i>Eplingiella fruticosa</i>	Inseticida	<i>Acromyrmex balzani</i>	SILVA et al., 2019
<i>Tabebuia heptaphylla</i>	Inseticida	<i>Aedes aegypti</i>	BORGES et al., 2019

Fonte: A autora.

Os MS com atividades fungicidas e inseticidas atuam em diferentes modos de ação. A maioria deles age paralelamente aos compostos de sinalização celular e afeta as atividades fisiológicas ou atua em partes do patógeno como: inibição enzimática, a interação com o DNA e sistema reprodutivo (ZAYNAB et al., 2018). Vários estudos relatam que os extratos ou alguns de seus componentes são capazes de perturbar a parede celular e a integridade da membrana e penetrar facilmente nas células (LI et al., 2015; PONTIN et al., 2015). Essa interrupção provoca danos na membrana mitocondrial, o que induz a mudanças na cadeia de transporte de elétrons. Conseqüentemente, os radicais livres são produzidos, os quais oxidam e danificam lipídios, proteínas e DNA. Em contato com espécies reativas de oxigênio, os compostos fenólicos são oxidados e liberam radicais de fenoxilo reativos (BAKKALI et al., 2008; ALAM et al., 2014).

O efeito dos herbicidas vegetais está ilustrado na Figura 2.7. Os MS são absorvidos pelas sementes das plantas daninhas, o que inicia os danos à membrana celular, DNA, mitose, atividade da amilase, outros processos bioquímicos e atrasa ou inibe a germinação das sementes. O crescimento de plantas daninhas também é retardado devido às baixas taxas de divisão de células, absorção de nutrientes, síntese de pigmentos fotossintéticos e síntese de hormônio de crescimento vegetal, enquanto a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS) e hormônios mediados por estresse aumentam. Alguns dos metabólitos causam doenças, necrose e clorose, que inibem a germinação e o crescimento de sementes das plantas daninhas, suprimindo as atividades de fotossíntese e aumentando as EROs, o ácido abscísico e o etileno (RADHAKRISHNAN et al., 2018).

Figura 2.7- Efeito dos bioherbicidas no controle de plantas daninhas.



Fonte: Adaptado de Radhakrishnan et al. (2018).

O efeito da natureza fitotóxica dos extratos vegetais na germinação varia com o tamanho e a permeabilidade da semente da planta daninha (HANLEY et al., 2005; DAYAN, 2006). Os compostos de extratos vegetais reduzem a atividade da amilase em plantas daninhas, o que retarda a germinação das sementes devido ao processo lento de hidrólise do amido (HEGAB et al., 2008). Os efeitos bioherbicidas dos extratos vegetais têm sido comprovados por mudanças anatômicas nas plântulas, incluindo o aumento dos glóbulos lipídicos, a diminuição das mitocôndrias e a destruição das membranas mitocondrial e dos núcleos (NISHIDA et al., 2005).

Os efeitos aleloquímicos afetam mais as superfícies radiculares primárias do que os hipocótilos devido às finas camadas das cutículas, o que permite o transporte de mais compostos fitotóxicos para as células da raiz (BESSIRE et al., 2007; YOSHIMURA et al., 2011). Como resultado, o ciclo celular e a divisão são alterados e a membrana, ultraestrutura celular são danificadas e todas elas podem inibir o crescimento da raiz (YANG et al., 2011; YOSHIMURA et al., 2011; CHOWHAN et al., 2013; GRAÑA et al., 2013). Os compostos fitotóxicos reduzem o tamanho das células do metaxilema nas raízes, o que pode inibir o alongamento celular devido a alterações na auxina, etileno e citocininas (ANESE et al., 2015). Extratos de plantas alteram o metabolismo das proteínas através de regulação anormal de proteínas. Especificamente, a proteína de ligações da clorofila a/b é reduzida em duas vezes, o que leva à supressão da síntese de clorofila e afeta a fotossíntese (RADHAKRISHNAN et al., 2018).

Porém deve-se levar em consideração que os mecanismos de ação pelos quais os produtos botânicos atuam ainda precisam ser mais explorados, pelo fato dos extratos conterem uma mistura de compostos bioativos. Assim sua atividade alelopática pode ser atribuída muitas vezes não apenas a um composto mas a vários compostos que atuam em sinergia (PITAROKILI et al., 2003; BAKKALI et al., 2008).

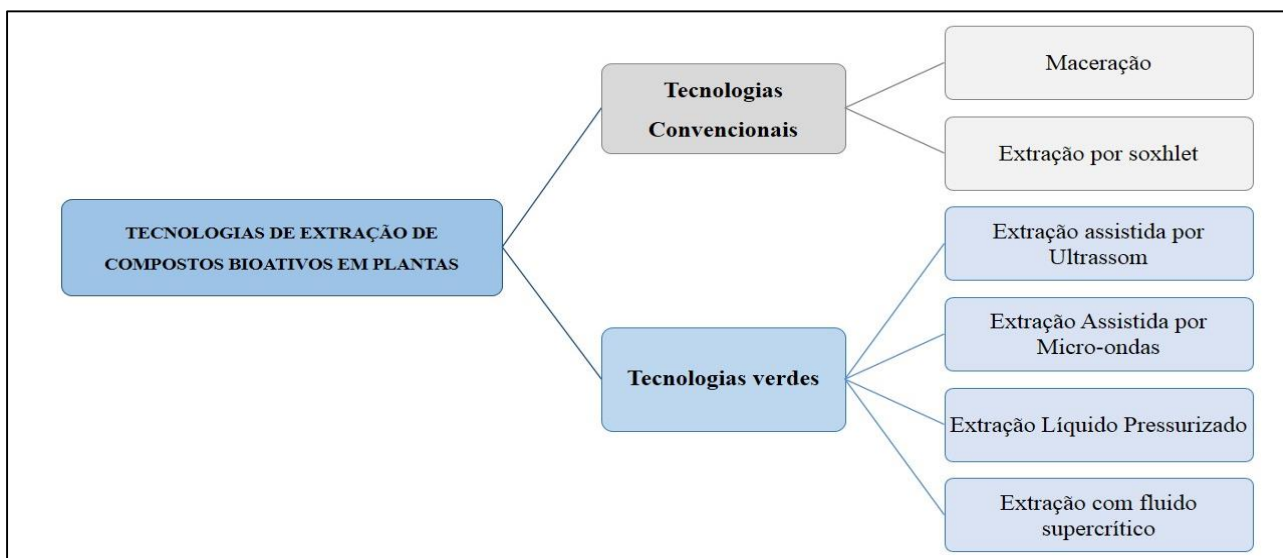
## 2.4 PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

O termo extração significa retirar, da maneira mais seletiva e completa possível, as substâncias ou fração ativa contidas na matriz vegetal, utilizando, para isso, solventes seletivos em procedimentos de extração padrão (SANTOS et al., 2013). Este é o primeiro passo no processo necessário para obter os componentes químicos desejados para posterior caracterização analítica. Antes de executar uma extração, deve-se levar em consideração uma série de fatores que interferem nesta operação, tais como as características do material vegetal, o seu grau de divisão, o meio extrator (solvente) e a metodologia a ser empregada (SASIDHARAN et al., 2011).

O tipo de extração a ser utilizado é uma consideração importante na extração de compostos bioativos de plantas (GOLTZ et al., 2018) e várias técnicas de extração podem ser aplicadas. Geralmente, as técnicas de extração foram classificadas como técnicas convencionais e tecnologias verdes (Figura 2.8). Convencionalmente é realizada principalmente por métodos de Soxhlet e maceração, porém essas técnicas são limitadas devido ao consumo excessivo de tempo, energia e solventes poluentes. Nos últimos anos novas técnicas de extração estão sendo utilizadas. Elas permitem a automação dos processos, encurtam os tempos de extração e reduzem o consumo de solventes orgânicos, evitando a poluição em laboratórios analíticos e reduzem os custos de preparação de amostras (SOQUETTA et al., 2018). A extração de compostos bioativos pode ser realizada por diversas metodologias: extração com fluido supercrítico (LIMA et al., 2019), extração assistida por ultrassom (WEI et al., 2019), micro-ondas e líquidos pressurizados (SANTOS et al., 2019b). Cada técnica tem suas próprias vantagens e desvantagens, mas o principal objetivo do método escolhido é obter a extração completa dos compostos de interesse e evitar sua modificação química (CUJIC et al., 2016).



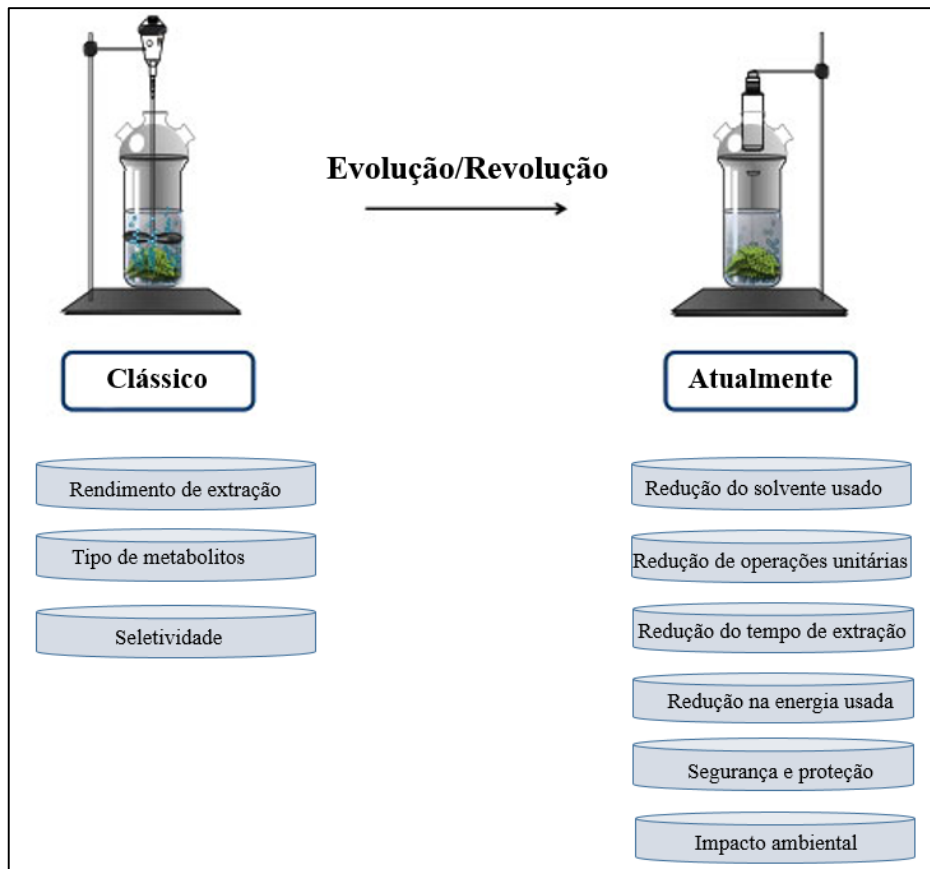
Figura 2.8- Tipos de tecnologias de extração usadas para a extração de compostos bioativos.



Fonte: A autora.

A extração “verde” de produtos naturais pode ser um novo conceito para enfrentar os desafios do século XXI (CHEMAT et al., 2012; ROMBAUT et al., 2014). Devemos incluir a mudança de consciência na extração: de um simples interesse em análise de dados, para o interesse em modelos que considerem os efeitos de novas práticas ao meio ambiente (CHEMAT et al., 2017b). Essa evolução ou revolução da extração de produtos naturais é apresentada na Figura 2.9.

Figura 2.9- Evolução ou revolução da extração.



Fonte: Adaptado de Chemat et al. (2017).

Extração “verde” é uma tendência nas pesquisas de produtos naturais (WEN et al., 2018) e seu conceito tem sido proposto por muitos pesquisadores (ROMBAUTET al., 2014; BUBALO et al., 2016; CHEMAT et al., 2017b). É baseada na descoberta e no design de processos de extração que reduzem o consumo de energia, permitem o uso de solventes alternativos e produtos naturais renováveis e garantem um extrato/produto seguro e de alta qualidade (CHEMAT et al., 2012) e ao mesmo tempo, aumentam a competição das indústrias para serem mais ecológicas, econômicas e inovadoras (WEI et al., 2015). Além disso, essas tecnologias devem estar em conformidade com os seis princípios da extração “verde”, conforme direcionado para estabelecer um rótulo verde inovador (KUŞÇU et al., 2015):

Princípio 1: Inovação através da seleção de técnicas e uso de recursos renováveis de plantas;

Princípio 2: Uso de solventes alternativos e principalmente água ou agro-solventes considerados GRAS (Geralmente Reconhecidos como Seguros);

Princípio 3: Reduzir o consumo de energia pela recuperação de energia e uso de tecnologias inovadoras;

Princípio 4: Produção de coprodutos com reduzida produção de resíduos;

Princípio 5: Redução nas operações unitárias utilizadas e processos controlados com segurança;

Princípio 6: Produção de extrato biodegradável com valores “verdes”.

#### **2.4.1 Soxhlet**

A extração utilizando Soxhlet é o método mais comumente utilizado para extrair compostos em matrizes vegetais (SEIDEL, 2012). É uma técnica muito simples e essa simplicidade torna os procedimentos para diferentes amostras muito semelhantes. Esse processo de extração é utilizado, sobretudo, para extrair sólidos com solventes voláteis, exigindo o emprego do aparelho Soxhlet (SIMÕES et al., 2000). O Soxhlet permanece como uma das técnicas mais relevantes no campo de extração. Esta afirmação é apoiada pelo uso duplo de Soxhlet convencional: (1) como uma etapa de extração em um dado método, e/ou (2) como um modelo bem estabelecido para comparação de novas alternativas de extração (LUQUE DE CASTRO et al., 2013).

Essa técnica apresenta vantagens em comparação com outros métodos convencionais pelo seu alto rendimento, baixo custo de processamento, simplicidade de operação, consumo menor de tempo e solvente (HANDA, 2008; SEIDEL, 2012). A desvantagem mais significativa da extração de Soxhlet é a utilização de solventes orgânicos altamente tóxicos (GUJAR et al., 2010; CHI et al., 2016), podendo acarretar em problemas ambientais (LUQUE DE CASTRO et al., 2013). Ao comparar com técnicas mais avançadas, o Soxhlet requer grandes volumes de solvente e alta demanda de tempo (GUJAR et al., 2010; CHI et al., 2016; PATIL et al., 2017). Ressalva-se que o Soxhlet requer um excesso de energia para evaporação do solvente e é um método analítico raramente aplicado em escala industrial (VÁZQUEZ-LEÓN et al., 2019).

### 2.4.2 Maceração

A maceração é uma técnica muito antiga para a extração de ingredientes ativos de várias matrizes e, hoje, ainda é praticada como uma técnica de extração simples e econômica para os materiais empregados (ALBUQUERQUE et al., 2017; GALLO et al., 2017). O procedimento consiste em agitar (estática ou dinâmica) a amostra em um solvente por um determinado período de tempo e temperatura específica, sem renovação do solvente. Ao final do processo o líquido extrator é separado e o resíduo prensado (ALBUQUERQUE et al., 2017).

Essa técnica é considerada um processo estático, não exaustivo e que não conduz ao esgotamento total da matéria-prima vegetal, seja devido, a saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula (LIEBERMAN et al., 1990, VOIGT et al., 1993). É uma técnica simples, no entanto, muitas vezes requer longos períodos de tempo e consome grandes volumes de solvente (LUQUE DE CASTRO et al., 2013).

### 2.4.3 Extração com Fluido Supercrítico

Em 1822, o estado supercrítico foi evidenciado pela primeira vez e, no ano de 1879, Hannay e Hogarth demonstraram a capacidade dos fluidos supercríticos em dissolver solutos, introduzindo a possibilidade de um novo solvente a ser utilizado nas extrações (HERRERO et al., 2010; ROMBAUT et al., 2014). No entanto, apenas em 1970 a EFS começou a ser utilizada em grande escala para o refinamento de óleos de cozinha, recuperando sabores e pungências de especiarias, lúpulo e outros materiais vegetais e descafeinação de café e chá (MANJARE et al., 2019). Ressalva-se que atualmente é uma das técnicas de extração mais estudadas quando se utiliza materiais vegetais (GALLEGO et al., 2019).

Segundo Brunner (2005), em um processo de extração com fluido supercrítico, o processo de solubilização de uma matriz vegetal ocorre em vários estágios. Em primeiro lugar, a matriz vegetal absorve o solvente supercrítico, inchando sua estrutura celular e membranas e dilatando os canais intercelulares, levando à queda na resistência à transferência de massa. Entretanto, a dissolução do extrato e a transferência de massa ocorrem da matriz interna para a sua superfície e os compostos solubilizados atingem a superfície externa. Estes são então transportados da superfície para o solvente supercrítico e finalmente removidos do solvente.

Um fluido supercrítico é definido como uma substância que se encontra acima de sua temperatura e pressão críticas do solvente (CABEZA et al., 2017). Acima do ponto crítico, deixa de haver tensão superficial e separação entre as fases líquida e gasosa em equilíbrio, formando-se uma única fase supercrítica, cujas propriedades são intermediárias daqueles dois estados. Abaixo do ponto crítico o fluido pode existir como um líquido ou como um vapor (SANDLER, 1989).

Os fluidos supercríticos têm propriedades físico-químicas intermediárias entre gases e líquidos e essas propriedades (como densidade, viscosidade e difusividade) podem ser ajustadas modificando as pressões e temperaturas (sempre acima do ponto crítico) (Tabela 2.2). Portanto, os fluidos supercríticos muitas vezes podem fornecer condições ótimas para experimentos e processos (VIVAS et al., 2018). Esta alteração do estado de agregação de um gás ou líquido, em função de mudanças na pressão e na temperatura, conduz a uma mudança na sua densidade e no poder de solvatação, alterando o comportamento químico da substância (SARGENTI, 1994).

Tabela 2.2- Comparação entre as propriedades de gases, líquidos e fluidos supercríticos.

Propriedades físicas	Gás	Fluido supercrítico		Líquido
	(1 atm, 15-30°C)	T <sub>c</sub> , P <sub>c</sub>	T <sub>c</sub> , 4xP <sub>c</sub>	15 - 30°C
Difusividade (cm <sup>2</sup> /s)	0,1-0,4	0,7x10 <sup>-3</sup>	0,2x10 <sup>-3</sup>	0,2 a 2x10 <sup>-5</sup>
Viscosidade (g/cm.s)	1 a 3x10 <sup>-4</sup>	1 a 3x10 <sup>-4</sup>	3 a 9x10 <sup>-4</sup>	0,2 a 3x10 <sup>-2</sup>
Densidade (g/L)	0,6 a 2x10 <sup>-3</sup>	0,2 a 0,5	0,4 a 0,9	0,6 a 1,6

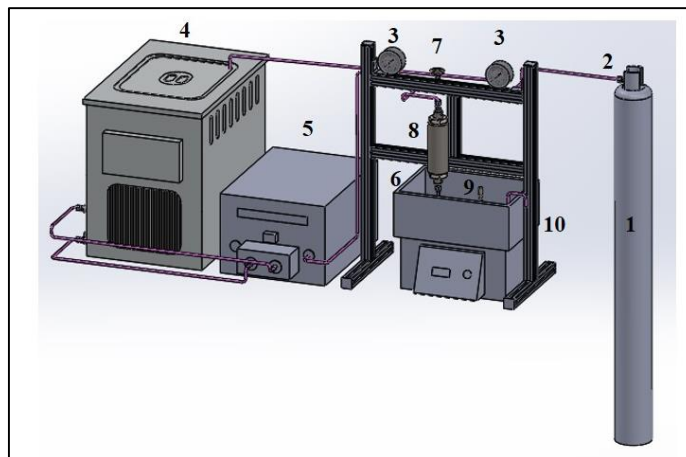
Fonte: Adaptado de Brunner (2005) e Tzia et al., (2003).

Outra característica desta técnica é que a EFS é ecologicamente correta e o material extraído estará livre de resíduos de solvente por despressurização, permitindo que o fluido supercrítico retorne à sua fase gasosa e evapore os resíduos do solvente (ABBAS et al., 2008). Há um grande número de solventes que podem ser empregados em EFS, como o etanol, propano, pentano e *n*-butano. Porém, o CO<sub>2</sub> é o solvente mais utilizado nessa técnica de extração (GUJAR et al., 2010; CONFORTIN et al., 2017). O uso do CO<sub>2</sub> apresenta algumas vantagens como baixa toxicidade, alta pureza em relação a outros fluidos, é ambientalmente correto e apresenta condições de trabalho brandas (T<sub>c</sub> = 31,1°C; P<sub>c</sub> = 73,8 bar). Ressalava-se que isso é uma questão fundamental para a preservação de compostos bioativos em extratos, pois permitem que a maioria dos

compostos seja extraída com pouco dano ou desnaturação (BARBOSA et al., 2014; HERRERO et al., 2015; CABEZA et al., 2017).

A Figura 2.10 apresenta um diagrama de fluxo geral do equipamento presente no Laboratório de Engenharia de Processos Agroindustriais (LAPE) usado para realizar a EFS.

Figura 2.10- Aparato experimental utilizado nas extrações com fluido supercrítico: (1) cilindro de CO<sub>2</sub>, (2) válvula de bloqueio, (3) medidor de pressão, (4) banho de resfriamento, (5) bomba de CO<sub>2</sub>, (6) banho de aquecimento, (7) válvula de segurança, (8) célula de extração encamisada com controle de temperatura, (9) válvula micrométrica e (10) coletor de extrato.



Fonte: A autora.

#### 2.4.3.1 Cinética de extração

Um aspecto importante a ser considerado ao estudar os processos de extração supercrítica são as curvas gerais de extração (DAL PRÁ et al., 2016). A representação cinética de uma EFS é obtida a partir dos dados da curva de extração, que é normalmente representada em um gráfico de massa extraída acumulada *versus* tempo de extração. A curva obtida depende dos parâmetros do processo e dos fenômenos que ocorrem no reator de leito fixo durante o processo de extração (SILVA et al., 2016).

As curvas de extração global podem ser caracterizadas por três períodos: taxa de extração constante (CER), período de taxa decrescente de extração (FER) e período difusional (Etapa difusional) (FERREIRA et al., 2002; MINOZZO et al., 2012; MESOMO et al., 2013; JESUS et al., 2015; VIVAS et al., 2018). Na etapa CER a superfície externa das partículas é coberta com soluto

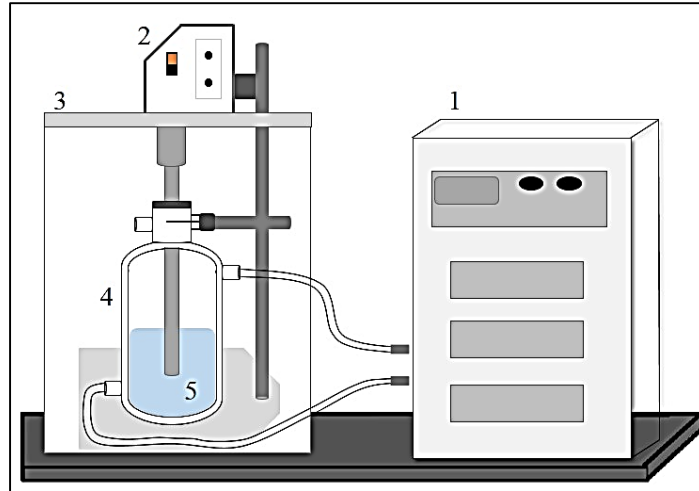
e a remoção do extrato ocorre na superfície externa da partícula a uma velocidade aproximadamente constante, por convecção. No período FER ocorre resistência à transferência de massa na interface sólido-fluido devido a falhas do soluto na camada externa da superfície da matriz, iniciando o mecanismo de difusão, que atua combinado com a convecção. A última etapa da curva é o período onde não há soluto na superfície da partícula sólida, caracterizando a retirada do extrato através do mecanismo de difusão (FERREIRA et al., 2002).

As curvas podem ser utilizadas para determinação de parâmetros como: tempo de processo, caracterização de etapas de extração, determinação de solubilidade e modelagem da transferência de massa do sistema. A modelagem das curvas é importante para se obter informações relacionadas com a pressão, temperatura e vazão do solvente, permitindo a ampliação de escala dos processos de ESC (PERRUT, 2000).

#### **2.4.4 Ultrassom**

O ultrassom foi definido como a frequência superior a 20 kHz, que é o limite para a detecção auditiva humana (SANDERSON, 2004). A fonte de saída do ultrassom é geralmente um corpo vibratório, que faz o meio circundante vibrar e, em seguida, a onda de ultrassom transfere energia para outras partículas (WEN et al., 2018) (Figura 2.11). O ultrassom é bem conhecido por ter um efeito significativo na taxa de extração em vários processos na indústria química e de alimentos, sendo uma tecnologia-chave para alcançar o objetivo da química e extração “verde” sustentável (CHEMAT et al., 2017a).

Figura 2.11 - Diagrama de um aparato experimental para extração assistida por ultrassom: (1) banho termostático, (2) processador de ultrassom de alta intensidade, (3) caixa à prova de som, (4) reator encamisado, (5) matriz vegetal + solvente extrativo.



Fonte: A autora.

A extração por US é uma das técnicas de extração mais eficientes em comparação com métodos convencionais quando utilizada na extração de compostos bioativos de plantas (VINATORU et al., 2017). Esta técnica pode acelerar o processo a baixas temperaturas, causando menor dano às propriedades estruturais e moleculares dos compostos nas matrizes vegetais (YUAN et al., 2015). Sendo assim, o ultrassom têm sido utilizado para acelerar processos e reduzir os tempos de extração (REÁTEGUI et al., 2014). As vantagens em utilizar o US incluem menor tempo de operação, maior facilidade de operação, menor consumo de solvente e temperatura, economia de energia e maior rendimento (WEN et al., 2018).

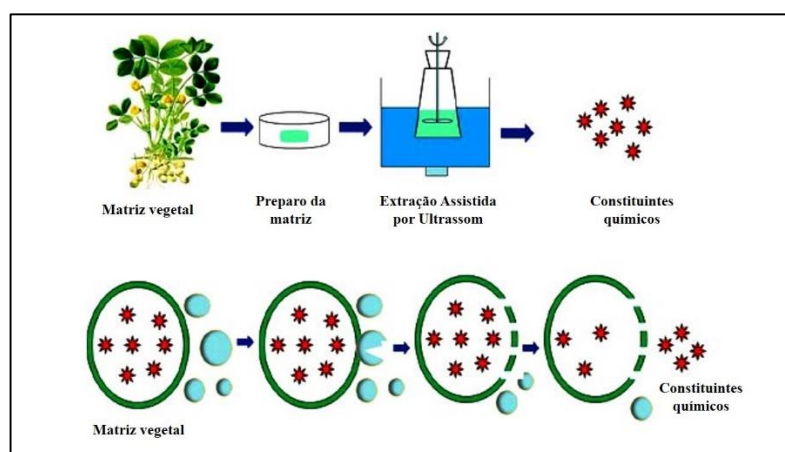
Como qualquer onda sonora, o ultrassom é propagado através de uma série de ondas de compressão e rarefação induzida sobre as moléculas. Nessas regiões de mudança de pressão, a cavitação ocorre e bolhas de gás são formadas. Essas bolhas crescem por um processo conhecido como difusão retificada, isto é, pequenas quantidades de vapor (ou gás) do meio entram na bolha durante sua fase de expansão e não são totalmente expelidas durante a compressão (VINATORU et al., 2017).

O mecanismo de ação do US está associado principalmente ao efeito da cavitação, que foi identificado e caracterizado pela primeira vez em 1895 por Thornycroft (MASON, 2012). Nas matrizes vegetais o US é aplicado conforme ilustrado na Figura 2.12. As bolhas de cavitação são



produzidas perto da superfície do substrato da planta quando o ultrassom é aplicado, a implosão destas causam a ruptura da parede celular do tecido vegetal (STEVANATO; DA SILVA, 2019). Este dano aumenta a turbulência e a penetração do solvente na matriz vegetal e provoca a liberação do conteúdo intracelular, aumentando a taxa de transferência de massa do solvente para a área interna da matriz e os constituintes solúveis para o solvente (VINATORU et al., 2017; BUNDHOO et al., 2018; WEN et al., 2018). Além disso, a cavitação na superfície da parede celular resulta na perturbação de sua estrutura, causada por microjatos de solvente, o que também contribui para o aumento da transferência de massa (VINATORU et al., 2017).

Figura 2.12- Representação esquemática dos principais processos durante a extração ultrassônica de matrizes vegetais.



Fonte: Adaptado de Wen et al. (2018).

No geral vários mecanismos têm sido identificados atuando nas extrações assistidas por ultrassom em estruturas de plantas: fragmentação, erosão, capilaridade, detexturação, efeito sonoro-capilar, estresse de cisalhamento local e sonoporação. Ressalva-se que todos esses mecanismos estão envolvidos na cavitação e individualmente ou combinados, atuam no processo de EUS e colaboram na extração de compostos bioativos (CORBIN et al., 2015; CHEMAT et al., 2017a).

Como o US é uma onda mecânica, seus parâmetros físicos como frequência, potência, amplitude e ciclo, desempenham papéis vitais no processo de extração (WEN et al., 2018; SETYANINGSIH et al., 2019), podendo influenciar na cavitação acústica e, portanto, na extração.

Em baixas frequências, as bolhas de cavitação são relativamente menos numerosas, embora com alto diâmetro, o que privilegia os efeitos físicos, em vez dos químicos (LEONG et al., 2011; MASON et al., 2011). O efeito da frequência pode estar ligado não apenas ao tamanho da bolha de cavitação, mas também à sua influência na resistência à transferência de massa (ESCLAPEZ et al., 2011). Segundo Chemat et al. (2017a), a intensidade ultrassônica é um valor relevante que afeta fortemente a eficiência da extração, pois com o aumento da mesma, o colapso da bolha será mais violento, rompendo as estruturas vegetais.

Porém outros parâmetros como temperatura e escolha do solvente também precisam ser levados em consideração para alcançar os resultados esperados no processo de ultrassom. Portanto para uma aplicação bem sucedida da extração assistida por ultrassom, é necessário considerar a influência de várias variáveis no processo (ESCLAPEZ et al., 2011).

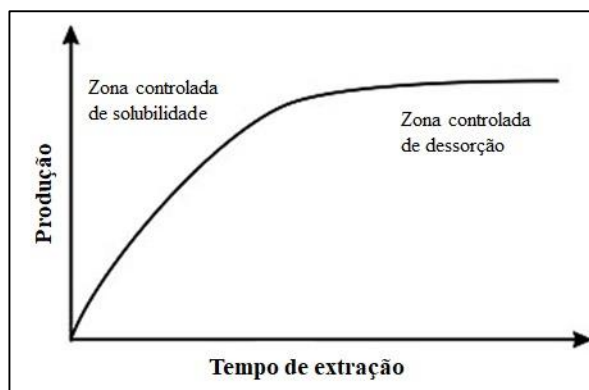
#### **2.4.5 Extração por Líquido Pressurizado**

A extração por líquido pressurizado (ELP) é uma tecnologia “verde” para a extração de compostos bioativos. Também conhecida como extração acelerada de solvente, foi desenvolvida na década de 90 como uma alternativa ao Soxhlet e outras técnicas de extração (MUSTAFA et al., 2011; TENA, 2018). A ELP é uma importante técnica de extração, pois aumenta a eficiência da extração de vários compostos bioativos, permitindo a extração rápida e a redução do consumo de solvente (SANTOS et al., 2012; SHANG et al., 2014). As técnicas de automação são a principal razão para o maior desenvolvimento de técnicas baseadas em ELP, juntamente com a diminuição do tempo de extração e da necessidade de solventes (AZMIR et al., 2013).

A ELP é baseada no uso de solventes em elevadas pressões e temperaturas, mas não acima do ponto crítico. O principal objetivo desta técnica é promover a extração de compostos a partir de matrizes sólidas ou semi-sólidas em curto espaço de tempo e utilizando pequena quantidade de solvente (VIGANÓ et al., 2015; KANG et al., 2016; TENA, 2018; WIANOWSKA et al., 2019). A principal vantagem da ELP em relação aos métodos convencionais de extração é que os solventes pressurizados permanecem no estado líquido quando levados a temperaturas superiores aos seus pontos de ebulição. Estas condições melhoram o poder de solvatação dos líquidos e a cinética de desorção da matriz sólida. Além disso, apresenta maior automação, rendimentos de extração elevados, menor tempo de extração e menor toxicidade de solventes em comparação com outros métodos convencionais (HEO et al., 2014; VIGANÓ et al., 2015; KANG et al., 2016).

O processo de ELP pode ser dividido em dois estágios. O primeiro é um período em que a extração é controlada pela solubilidade, e o segundo é controlado pela difusão de solutos no solvente, como mostrado na Figura 2.13. Durante a ELP, vários fatores, podem estar inter-relacionados e podem influenciar na extração, como solvente, temperatura, pressão e tempo de extração, tamanho de partícula e teor de água da amostra (CARABIAS-MARTÍNEZ et al., 2005; HOSSAIN et al., 2011; MUSTAFA et al., 2011), porém as variáveis com maior efeito são o tipo de solvente e a temperatura (TENA, 2018).

Figura 2.13 - Curva típica de um processo de extração por líquido pressurizado.



Fonte: Adaptado de Viganó et al. (2015).

Um aspecto elementar na escolha do solvente é a característica de solubilidade do analito desejado, sua difusividade no solvente e as características da amostra (PRONYK et al., 2009). Os principais solventes usados na ELP são o metanol, isopropanol, acetona, *n*-hexano e éter. Porém, água e etanol têm sido cada vez mais empregados na extração de compostos bioativos por serem considerados solventes "verdes" (VIGANÓ et al., 2016). Segundo Mustafa e Turner (2011), o uso de misturas de solventes pode ajudar a melhorar a solubilidade e aumentar a interação com o composto alvo, ou seja, uma substância melhora a solubilidade e a outra melhora a dessorção do soluto.

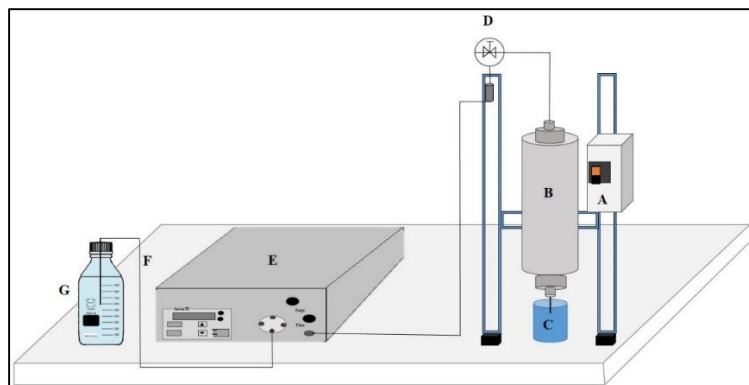
A temperatura durante a extração é um dos fatores críticos que afetam a eficiência e a seletividade na ELP (VIGANÓ et al., 2015). A temperatura pode melhorar o umedecimento do solvente na amostra, permitir que os analitos se dissolvam mais rapidamente no solvente, e então alcançar um processo de extração melhorado (HOSSAIN et al., 2011). À medida que a temperatura aumenta, as taxas de solubilidade e difusão dos solventes de extração aumentam. Por outro lado, a

viscosidade dos solventes líquidos diminui, o que lhes permite penetrar melhor nas partículas da amostra (TENA, 2018). A quantidade de analitos co-extraídos pode aumentar em temperaturas mais altas, resultando em diminuição na seletividade da extração. Além disso, altas temperaturas podem afetar compostos termolábeis que são submetidos à desintegração e degradação hidrolítica (MUSTAFA et al., 2011; VIGANÓ et al., 2015).

A pressão é um parâmetro que não apresenta grande influência no rendimento do processo de extração, pois os líquidos não são fluidos compressíveis. Portanto, mesmo sob grandes mudanças de pressão, o poder de solvência do solvente não é significativamente afetado (OSORIO-TOBÓN et al., 2013). Porém, geralmente, a pressão ajuda a forçar o solvente para dentro dos poros da matriz e manter o solvente em estado líquido ou condensado em temperaturas operacionais (HOSSAIN et al., 2011). Assim, o uso de altas pressões facilita a extração de compostos localizados dentro dos poros da matriz, devido a um aumento da pressão que obriga o solvente a penetrar em locais que normalmente não são atingidos pelo solvente à pressão atmosférica (JIANG et al., 2007).

A ELP pode ser executada no modo estático, dinâmico ou misto. Na configuração estática, o processo de extração consiste em um ou vários ciclos de extração com substituição do solvente entre ciclos. A amostra é introduzida na célula de extração e em seguida é preenchida com o solvente líquido antes que os valores de temperatura e pressão de trabalho sejam atingidos. Então a extração estática é realizada mantendo a amostra e o solvente em contato sob essas condições de temperatura e pressão por um tempo. Depois disso, a pressão é liberada, a válvula é aberta, liberando uma mistura de solventes e extratos para a coleta. Enquanto no modo dinâmico (fluxo) de operação, a vazão é definida durante o tempo estático, onde a bomba fornece solvente a uma vazão constante. O solvente é introduzido continuamente na célula de extração em determinada vazão para melhorar a recuperação, enquanto a válvula de saída é mantida aberta durante a extração. O modo misto é uma combinação de um primeiro passo estático seguido por um passo dinâmico (MUSTAFA et al., 2011, OSORIO-TOBÓN et al., 2013, TENA, 2018). Uma configuração básica de extração de líquido pressurizado é mostrada na Figura 2.14.

Figura 2.14- Aparato experimental para extração com líquidos pressurizados: (A) controlador de temperatura, (B) reator encamisado com controle de temperatura, (C) frasco de coleta, (D) manômetro, (E) bomba de alta pressão, (F) linha de solvente, (G) frasco com solvente.



Fonte: A autora.

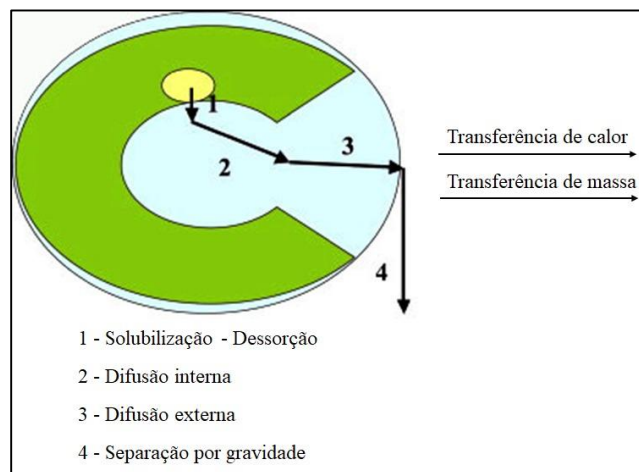
#### 2.4.6 Micro-ondas

O uso da energia de MO foi descrito pela primeira vez em 1986 por Ganzler e Lane para extração de compostos alimentícios (CHEMAT et al., 2017b). Nos últimos anos e com o desenvolvimento da Química Verde, a aplicação da extração por micro-ondas (EMO) ganhou enorme popularidade como um processo favorável ao meio ambiente para a extração do metabolismo secundário em numerosos laboratórios e grandes indústrias (YU et al., 2013; FILLY et al., 2014). De fato, a EMO melhorou a quantidade e a qualidade do extrato, reduziu o tempo de extração, diminuiu o custo e o consumo de energia e minimizou a quantidade de CO<sub>2</sub> emitida na atmosfera em comparação com os métodos convencionais de extração como a hidrodestilação (FARHAT et al., 2011). Impulsionado pela demanda crescente por novas técnicas “verdes” de extração, os avanços na extração por micro-ondas deram origem a duas classes de técnicas: Hidrodestilação de Micro-ondas sem Solventes e Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas (CHEMAT et al., 2017b).

O aquecimento por MO resulta na dissipação das ondas eletromagnéticas no meio irradiado. A energia dissipada em um meio depende das propriedades dielétricas e da intensidade do campo elétrico no tempo médio local (CHEMAT et al., 2017b). Para a EMO, a transferência de massa e de calor ocorre do exterior para o interior; os dois fenômenos de transporte são na mesma direção do interior do material extraído para o solvente. A aceleração das taxas de extração sob

micro-ondas pode ser devido a uma combinação de sinergia entre os fenômenos de transferência de massa e o calor atuando na mesma direção (Figura 2.15) (BOUSBIA et al., 2009).

Figura 2.15- Representação esquemática das etapas individuais no processo de isolamento de óleos essenciais a partir de materiais vegetais.



Fonte: Adaptado de Bousbia et al. (2009).

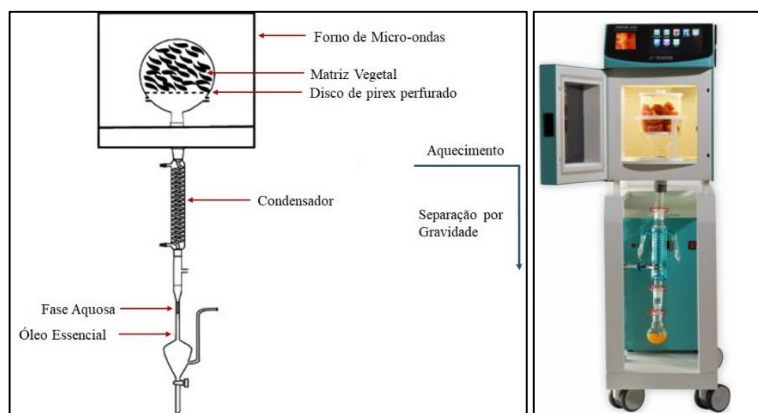
Na Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas (HGM), o calor é dissipado volumetricamente dentro do meio irradiado, enquanto na extração convencional de hidrodestilação por exemplo, o calor é transferido do meio de aquecimento para o interior da amostra. As micro-ondas são distribuídas volumetricamente e as transferências de calor ocorrem da amostra para o ambiente mais frio. Isso causa uma importante diferença entre o aquecimento convencional e o micro-ondas. No aquecimento convencional, a transferência de calor depende da condutividade térmica, da diferença de temperatura na amostra e dos fluidos nas correntes de convecção. Como resultado, o aumento da temperatura é frequentemente lento. Em contraste, no aquecimento por micro-ondas, devido ao efeito de aquecimento volumétrico, podem ser obtidos aumentos de temperatura muito mais rápidos, dependendo da potência do micro-ondas e do fator de perda dielétrica do material a ser irradiado (BOUSBIA et al., 2009).

A HGM alavancou os limites da extração assistida por micro-ondas para um processo inovador, rápido, eficiente e ecológico, sem qualquer degradação na qualidade do extrato (LÓPEZ-HORTAS et al., 2016; BENMOUSSA et al., 2018). A técnica HGM foi patenteada por Chemat et al. (2008), e é um original alambique de micro-ondas invertido (Figura 2.16), que combina o aquecimento (irradiação) por micro-ondas e a gravidade da pressão atmosférica, sem adição de

qualquer solvente ou água (BINELLO et al., 2014; LÓPEZ-HORTAS et al., 2016; TURK et al., 2017).

A HGM é uma nova tecnologia com enorme potencial para uma variedade de aplicações extrativas (RAVI et al., 2018). O uso de micro-ondas influencia as propriedades texturais do material vegetal e aumenta a difusão de metabólitos secundários, melhorando a maciez do tecido e aumentando a permeabilidade celular. Ela surge como uma tecnologia de economia de energia, uma vez que as micro-ondas também estão sendo capazes de melhorar a ruptura celular devido ao seu alto poder de penetração, resultando no aumento da transferência de massa dentro e fora dos tecidos da planta (ZILL-E-HUMA et al., 2009; PÉRINO-ISSARTIER et al., 2013).

Figura 2.16 – Extração Assistida por Micro-ondas, Hidrodifusão e Gravidade.



Fonte: Adaptado de FLAMINI et al. (2007) e CHEMAT et al. (2015).

## CAPÍTULO 3 – ARTIGO 1

Neste Capítulo estão descritas as metodologias e resultados e discussões para a extração assistida por ultrassom e extração com fluido supercrítico de *Solanum viarum*.

### **Valorização do *Solanum viarum* Dunal por extração de compostos bioativos das raízes e frutos utilizando Ultrassom e CO<sub>2</sub> supercrítico**

Artigo publicado no Periódico *Brazilian Journal of Chemical Engineering*

<https://dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20190364s20190267>

#### **Resumo**

*Solanum viarum* Dunal pertence à família Solanaceae e é considerada uma planta daninha de pastejo tóxica para o gado. Neste estudo, a extração assistida por ultrassom (EAU) e a extração supercrítica de CO<sub>2</sub> (ES-CO<sub>2</sub>) foram aplicadas para avaliar o rendimento de extração e a composição química de matrizes de frutos e raízes de *Solanum viarum* Dunal. Uma solução hidroalcoólica (60% etanol / 40% água, v/v) foi o solvente usado para a EAU. Para as comparações, foram realizadas extrações com Soxhlet e maceração. Para a ES-CO<sub>2</sub>, o maior rendimento foi obtido a 60°C e 250 bar. Para a EAU, o maior rendimento foi obtido com uma intensidade de ultrassom de 75,11 W/cm<sup>2</sup> e ciclo de pulso de 0,93. As técnicas parecem ser eficientes para a extração de compostos químicos, indicando um grande número de compostos bioativos. Os compostos principais são ácido 1,2-benzenodicarboxílico, ácido quínico, ácido octadecenóico e solasodina. Os resultados destacam a aplicação da EAU para recuperação de compostos de matrizes vegetais, uma vez que apresentou rendimentos superiores e mais constituintes químicos quando comparados com as outras técnicas de extração.

Palavras chaves: *Solanum viarum*; Extração assistida por ultrassom; Fluidos supercríticos; Soxhlet; Composição química.



## INTRODUÇÃO

*Solanum viarum* Dunal pertence à família Solanaceae e é uma planta nativa da América do Sul, conhecida como “juá” ou “joá-bravo” no Brasil (Braguini et al., 2018). É descrito como uma planta de folha larga, subarbusto ou arbusto (Kausar e Singh, 2018). Além disso, é considerada uma planta daninha de pastejo e uma planta altamente tóxica porque pode ser letal quando ingerida por gado ou outros rebanhos (Mentz et al., 1997; Milner et al., 2011).

Estudos sobre a toxicidade das folhas de *Solanum viarum* são descritos (Braguini et al., 2018) e relatam interessantes constituintes químicos, como solasodina, derivados do ácido cafeoilquínico, 5-cafeoil e 3-malonil-5-cafeoil- [4- (1-beta- [6- (5-cafeoil) quinato] glucopiranosil)] e ácido quínico (Kausar e Singh, 2018). Os frutos pertencentes à família Solanaceae podem acumular altos níveis de alcalóides (Cipollini e Levey, 1997), o que torna o estudo interessante uma vez que compostos alcalóides podem ser altamente tóxicos para vertebrados (Braguini et al., 2018). No entanto, relatos sobre técnicas, rendimento de extração e caracterização química de frutos e raízes de *Solanum viarum* não foram encontrados na literatura científica até o momento, o que torna este estudo extremamente importante.

A produção de metabólitos secundários pelas plantas para defesa é bastante comum no reino vegetal, e pode estar presente em lavouras agrícolas e plantas invasoras (Günthardt et al., 2018). Recentemente, tem havido um aumento significativo no uso de substâncias ativas encontradas em extratos vegetais devido às suas aplicações nos setores farmacêutico, alimentício e agrícola (De Melo et al., 2014; Kulkarni e Rathod, 2014; Zabot et al., 2016). No entanto, algumas matrizes vegetais representam aplicações potencialmente novas cujo conhecimento, na maioria dos casos, foi estabelecido empiricamente ou ainda carece de cobertura científica (De Melo et al., 2014). Novas técnicas têm sido desenvolvidas devido ao crescente interesse por compostos bioativos e por técnicas de “extração verde”, que superam o problema do tempo e do uso de solventes orgânicos (Easmin et al., 2014; Prakash Maran et al., 2017; Rouhani, 2019). Extração assistida por ultrassom (EAU) (Wei et al. 2019) e extração de fluido supercrítico (EFS) (Bubalo et al., 2015; Wei et al., 2019) são alguns exemplos de tais tecnologias.

O tipo de extração a ser usado desempenha um papel importante na extração de compostos bioativos (Goltz et al., 2018), e a extração assistida por ultrassom e a extração com fluido supercrítico estão sendo cada vez mais utilizadas (Kadam et al., 2013). A EFS permite extratos

livres de solventes e, por este motivo, pode ser considerada uma tecnologia verde (Aladić et al., 2015; Moraes et al., 2015). Também é vantajoso porque as propriedades físico-químicas podem ser ajustadas modificando as condições de pressão e temperatura dentro do sistema, aumentando a seletividade de extração (Santos-Zea et al., 2019). O solvente mais comumente utilizado para extrações de compostos bioativos de matrizes naturais é o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Soares et al., 2018), que apresenta vantagens como o uso de temperatura e pressão críticas moderadas (31 °C e 74 bar), e é um solvente atóxico, não inflamável e não poluente (Gadkari et al., 2018).

A extração assistida por ultrassom também é considerada uma das principais tecnologias para atingir a meta da química “verde” sustentável (Chemat et al., 2017). Tem a vantagem de diminuir o tempo de extração e a quantidade de solventes (Chemat et al., 2017; Vinatoru et al., 2017; Kiss et al., 2018), além de aumentar a recuperação de compostos bioativos das plantas (Corbin et al., 2015). Com base nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar as tecnologias de EAU e de EFS-CO<sub>2</sub> na obtenção de extratos de frutos e raízes de *Solanum viarum*. O rendimento do extrato e a composição química foram determinados.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta e preparação da amostra**

Raízes e frutos de *Solanum viarum* Dunal foram coletados em área de pastagem com solo compactado localizada em Getúlio Vargas, Rio Grande do Sul, Brasil (S:27°55'39,43/W: 52°7'37,14). As amostras foram secas a 40°C até atingirem um teor de umidade de aproximadamente 10%. Em seguida, as amostras foram moídas (Marconi, SP, Brasil) e as partículas classificadas pelo Diâmetro Médio de Sauter pela série Tyler. Os tamanhos variaram de 8 mesh a 48 mesh (0,3-2 mm) e foram usados para as etapas subsequentes. As amostras foram mantidas a -4°C até as extrações.

### **Extração por Soxhlet**

A extração por Soxhlet foi realizada utilizando 1 g de matriz vegetal e 150 mL de *n*-hexano por 150 min em um aparelho Soxhlet (Marconi, Modelo MA491/6, Brasil). A massa extraída foi quantificada pelo método gravimétrico. Os ensaios foram realizados em triplicata e as respostas

expressas em média  $\pm$  desvio padrão. As extrações de Soxhlet foram utilizadas como referência para comparação dos rendimentos e composições obtidas por EFS-CO<sub>2</sub>.

### **Extração por CO<sub>2</sub> supercrítico (EFS-CO<sub>2</sub>)**

Os ensaios experimentais de EFS-CO<sub>2</sub> foram realizados em um equipamento em escala laboratorial, utilizando dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) como solvente. Detalhes do aparelho e procedimento foram descritos por Confortin et al. (2019). Para as extrações, foram utilizados aproximadamente 10 g de amostras (secas e moídas) para cada matriz vegetal e a vazão de CO<sub>2</sub> foi de 4 g/min. Durante as curvas cinéticas de extração, os extratos foram coletados em intervalos iguais de 15 min. As curvas foram construídas para todas as matrizes em diferentes condições experimentais, a fim de determinar os rendimentos de extração em função do tempo usando Equação (1).

$$\text{Rendimento (\% em massa)} = (\text{massa do extrato (g)})/(\text{massa seca inicial da matriz (g)}) \times 100$$

(1)

As extrações foram realizadas nas temperaturas de 40, 50 e 60°C e nas pressões de 150, 200 e 250 bar. A densidade do fluido( $\rho$ ) foi obtida no Chemistry WebBook - National Institute of Standards and Technology (NIST). O teste de Tukey foi aplicado para determinar as diferenças significativas entre os rendimentos no nível de incerteza de 5% usando o software STATISTICA 8.0® (Statsoft Inc., EUA).

### **Extração assistida por ultrassom**

Os dados sobre o aparato experimental foram descritos por Sallet et al. (2019). Uma solução hidroalcoólica (60 mL de etanol grau HPLC e 40 mL de água destilada) foi usada para as extrações com base em trabalho anterior (Dal Prá et al., 2015). A sonda ultrassônica foi colocada no centro do biorreator contendo 2,5 g de matriz e 100 mL de solução hidroalcoólica. Posteriormente, a temperatura foi ajustada para 40°C  $\pm$  2°C pela circulação de água através de uma camisa de resfriamento. Após a extração, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 min, com força centrífuga relativa de 5320 $\times$ g. O sobrenadante foi recolhido cuidadosamente e os solventes foram evaporados a 40°C sob vácuo. Os efeitos da intensidade do ultrassom (17-85

W/cm<sup>2</sup>) e do ciclo de pulso (0,5-1,0) nos rendimentos de extração da matriz foram avaliados por meio de um delineamento composto central rotacional (DCCR). Uma maceração convencional sem o uso da sonda ultrassônica foi realizada como controle nas mesmas condições de tempo, temperatura e razão volumétrica.

### **Microscopia eletrônica de varredura**

A morfologia das amostras foi avaliada por meio de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Tescan, VEGA-3G, República Tcheca) acoplado a um detector de elétrons secundário para a obtenção das imagens. Para esta análise, as amostras foram recobertas com Au (processo de metalização por *sputtering*, utilizando uma corrente de 20 mA por 90 s).

### **Caracterização química dos extratos por cromatografia gasosa**

As amostras obtidas por EFS-CO<sub>2</sub> foram analisadas em um sistema GC-Q/MS (Shimadzu, Japão). O amostrador automático era um injetor da série AOC-20is, o cromatógrafo gasoso era um GC-2010 Plus e o espectrômetro de massa era um GCMS-QP2010 Ultra. A coluna era uma coluna capilar de sílica fundida de 30 m×0,25 mm id revestida com 0,25 µm Rtx-5MS (Restek). O hélio foi o gás de transporte a uma vazão de 1,69 mL/min. A temperatura do injetor foi mantida a 270°C. Um volume de 1 µL de cada amostra foi injetado em uma proporção de divisão de 1:10. O programa de temperatura do forno usado foi de 5°C/min de 50°C a 280°C (mantido por 15 min). A temperatura da interface foi mantida a 280°C e a temperatura da fonte de íons a 280°C. Os espectros de massa foram registrados na faixa de 35-500 amu a 3,33 varreduras/s, com energia de ionização de 70 eV.

Para os extratos obtidos por ultrassom, o mesmo método de análise foi usado com algumas modificações. A vazão do gás de arraste foi de 1,18 mL/min e a temperatura do injetor foi mantida a 320°C. Um volume de 1 µL de cada amostra foi injetado em uma proporção de divisão de 1:40. O programa de temperatura do forno usado foi de 5°C/min de 80°C a 300°C (mantido por 14 min). A temperatura da interface foi mantida a 320°C e a temperatura da fonte de íons foi mantida a 260°C.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Rendimento dos extratos por EFS-CO<sub>2</sub>

Os rendimentos de extração obtidos por Soxhlet e EFS-CO<sub>2</sub> dos frutos e raízes de *Solanum viarum* são apresentados em Tabela 1. Os maiores rendimentos foram obtidos com a extração por Soxhlet para os frutos (1,87% em massa) e raízes (0,52% em massa). Ambas as matrizes apresentaram comportamento semelhante em relação aos rendimentos por EFS-CO<sub>2</sub>, onde os maiores rendimentos ( $0,69 \pm 0,001\%$  em massa de frutos e  $0,37 \pm 0,001\%$  em massa de raízes) foram obtidos na menor temperatura e na maior pressão (40°C/250 bar), enquanto os menores rendimentos ( $0,40 \pm 0,002\%$  em massa de frutos e  $0,12 \pm 0,001\%$  em massa de raízes) foram obtidos no ensaio de temperatura mais alta e pressão mais baixas (60°C/150 bar).

O aumento da pressão de 150 para 250 bar resultou em maior rendimento do extrato. Já o aumento da temperatura de 40 para 60°C causou um menor rendimento. Este efeito é devido à densidade do solvente, pois o aumento da pressão aumenta a densidade do fluido supercrítico. Conseqüentemente, o poder de solvatação do solvente é aumentado. Um aumento na temperatura provoca uma diminuição da densidade e, conseqüentemente, uma diminuição da solubilidade dos extratos no CO<sub>2</sub> (Soares et al., 2016; Goyeneche et al., 2018). Goyeneche et al. (2018) relataram o mesmo comportamento deste estudo ao estudar folhas de rabanete. O aumento da pressão favoreceu o rendimento enquanto o aumento da temperatura dificultou o rendimento. Esse efeito também foi identificado nos trabalhos de Alvarez et al. (2019) e Elgndi et al. (2017).

Tabela 1. Comparação dos rendimentos das extrações obtidas de *Solanum viarum* usando EFS-CO<sub>2</sub> e Soxhlet.

Ensaio	T (°C)	P (bar)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Rendimento (g/100 g)	
				Frutos	Raízes
<b>EFS-CO<sub>2</sub></b>					
1	(-1) 40	(+1) 150	750,501	0,49 ± 0,002 <sup>cd</sup>	0,17 ± 0,001 <sup>cd</sup>
2	(-1) 40	(+1) 250	887,534	0,69 ± 0,001 <sup>ab</sup>	0,37 ± 0,001 <sup>ab</sup>
3	(+1) 60	(-1) 150	565,509	0,40 ± 0,002 <sup>de</sup>	0,12 ± <0,001 <sup>de</sup>
4	(+1) 60	(+1) 250	776,880	0,63 ± 0,020 <sup>bc</sup>	0,24 ± 0,001 <sup>bc</sup>
5	(0) 50	(0) 200	765,942	0,44 ± 0,002 <sup>ef</sup>	0,14 ± 0,003 <sup>ef</sup>
6	(0) 50	(0) 200	765,942	0,43 ± 0,002 <sup>ef</sup>	0,13 ± 0,003 <sup>ef</sup>
7	(0) 50	(0) 200	765,942	0,44 ± 0,002 <sup>ef</sup>	0,14 ± 0,003 <sup>ef</sup>
<b>Soxhlet</b>					
8	Nd	Nd	Nd	1,87 ± 0,224 <sup>A</sup>	0,52 ± 0,118 <sup>A</sup>

T: temperatura; P: pressão;  $\rho$ : densidade; Nd: não determinando.

a–e: Letras diferentes na mesma coluna representam uma diferença significativa em 95% ( $p < 0.05$  - Tukey test) entre os ensaios para cada solvente.

A-F: Letras diferentes na mesma coluna representam uma diferença significativa em 95% ( $p < 0.05$ —Tukey test) entre os ensaios entre ambos os solventes.

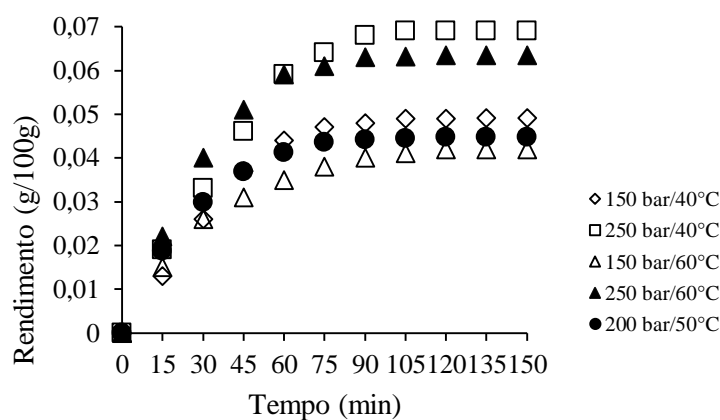
Um aspecto importante a ser considerado ao estudar os processos de extração são as curvas gerais de extração (Dal Prá et al., 2016). As curvas de extração são úteis para melhorar os processos e calcular os custos de fabricação (Martinez-Correa et al., 2017). Uma das dificuldades de usar a tecnologia supercrítica é o alto custo inicial de investimento (Goyeneche et al., 2018), que poderia ser superado pela otimização dos parâmetros do processo (Zabot et al., 2018). No entanto, apesar do alto custo inicial, alguns estudos têm demonstrado a viabilidade econômica do ESC-CO<sub>2</sub> (Fárias-Campomanes et al., 2013, Prado et al., 2012, Zabot et al., 2015).

As curvas de extração obtidas neste trabalho (Figura 1) são divididas em três etapas. A primeira é o período de taxa constante controlado pelo mecanismo convectivo de transferência de massa. Posteriormente, o outro período é conhecido como difusão e convecção, onde ocorre a extração. O terceiro período, onde a taxa de extração é baixa, é controlado principalmente por difusão (Alvarez et al., 2019). Como pode ser visto na Figura 1, observou-se uma alta taxa de extração no início do processo e uma rápida redução da taxa de extração nos minutos subsequentes. De acordo com Martinez-Correa et al. (2017), esse comportamento indica que o processo é controlado por difusão.

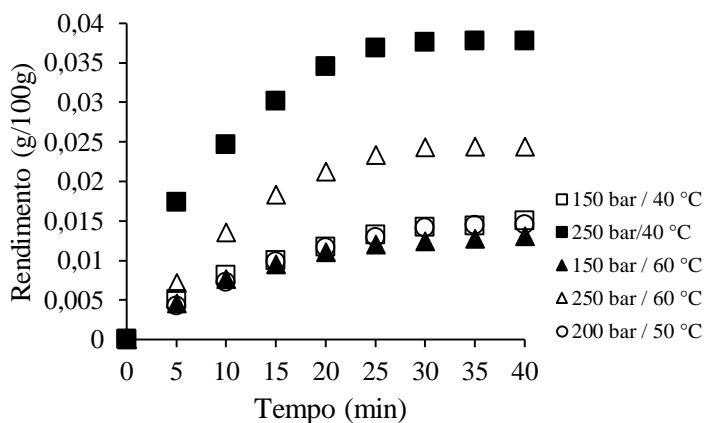
A taxa de extração constante foi verificada para os frutos nos primeiros 60 min, enquanto para as raízes foi nos primeiros 15 min. Nestes períodos, a maioria dos solutos são removidos desta

matriz, predominando a transferência de massa convectiva (Valente et al., 2018). Para os frutos, frações de 75,5%, 66,7%, 73,8%, 93,6% e 93,6% da massa total de extrato disponível em tal matriz foram recuperadas nos ensaios 1-5, respectivamente. Para as raízes, frações de 66,7%, 91,5%, 84,6%, 86,9% e 80,0% da massa total de extrato disponível em tal matriz foram recuperadas nos ensaios 1-5, respectivamente.

Figura 1. Curvas cinéticas para extração de *Solanum viarum* usando EFS-CO<sub>2</sub> para as matrizes de frutos e raízes.



(a)



(b)

### Extração Assitida por Ultrassom

A Tabela 2 apresenta os rendimentos de extração obtidos nos onze ensaios do DCCR, variando de 10,5% em massa a 20,8% em massa para os frutos e de 1,3% em massa a 11,7% em massa para as raízes. As duas matrizes demonstraram comportamentos muito semelhantes, tendo os maiores rendimentos no ensaio 4 com alta intensidade (75,11 W/cm<sup>2</sup>) e um ciclo de pulso de 0,93. O menor rendimento foi obtido no ensaio 1 com menor intensidade e ciclo de pulso.

Tabela 2. Rendimentos obtidos a partir dos frutos e raízes de *Solanum viarum* usando ultrassom.

Ensaio	Intensidade ultrassom (W/cm <sup>2</sup> )	Ciclo de pulso	Rendimento (g/100g)	
			Frutos	Raízes
1	26,89 (-1)	0,57 (-1)	10,5	1,3
2	75,11 (1)	0,57 (-1)	18,6	8,7
3	26,89 (-1)	0,93 (1)	16,6	6,4
4	75,11 (1)	0,93 (1)	20,8	11,7
5	17 (-1,41)	0,75 (0)	12,0	2,9
6	85 (1,41)	0,75 (0)	19,5	10,2
7	51 (0)	0,50 (-1,41)	16,9	6,9
8	51 (0)	1,0 (1,41)	18,2	8,2
9	51 (0)	0,75 (0)	17,1	7,1
10	51 (0)	0,75 (0)	17,9	7,2
11	51 (0)	0,75 (0)	17,8	7,5
12 <sup>a</sup>	0	0	9,7	1,1

a – Maceração– controle (Extração sem controle)

Comparando os ensaios 4 (maior rendimento) e 12 (controle - maceração), os rendimentos aumentaram aproximadamente 2 e 10 vezes para frutos e raízes, respectivamente. Esses dados são corroborados por Rouhani (2019), que obteve maior rendimento (79%) na extração de *Stevia rebaudiana* usando a Extração Assistida por Ultrassom, quando comparado ao controle (22%). De acordo com Sallet et al. (2019), cujos achados também corroboram aos resultados do trabalho atual, a principal razão para esse comportamento é o aumento da transferência de massa no sistema quando o ultrassom é empregado. No presente estudo, o efeito da cavitação e seus efeitos subsequentes permitiram a quebra das paredes celulares da matriz vegetal, melhorando a penetração do solvente e facilitando a liberação de compostos extraíveis, consequentemente



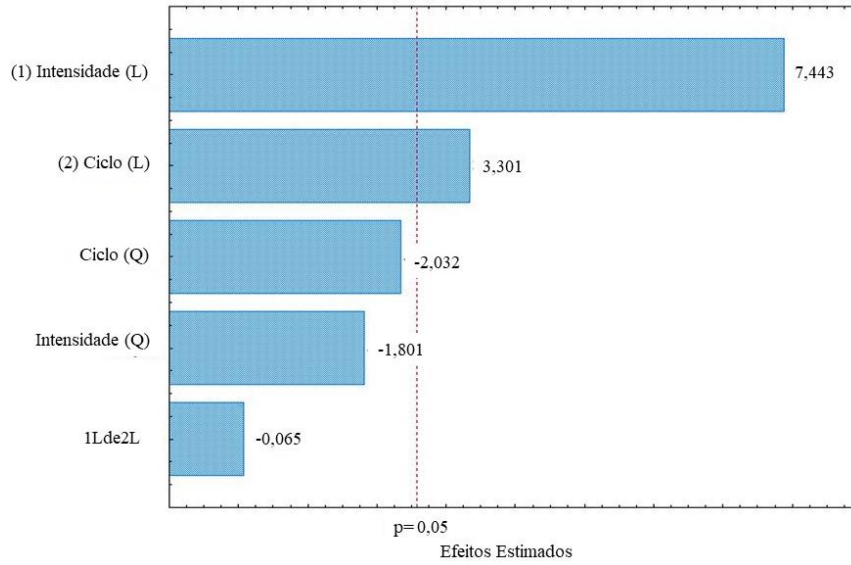
aumentando os rendimentos, conforme relatado em outros estudos (Picó, 2013; Bernardo et al., 2018).

Os dados apresentados na Tabela 2 foram usados para calcular os termos lineares, quadráticos e de interação das variáveis de processo na resposta, que foram expressos em gráfico de Pareto na Figura 2. Os termos lineares para o ciclo de pulso e intensidade do ultrassom foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) para ambas as matrizes. A intensidade do ultrassom apresentou efeito positivo, cujo aumento pode levar a maiores rendimentos para ambas as matrizes. Ao comparar os ensaios 1 e 2, e 3 e 4, os maiores rendimentos foram obtidos na maior intensidade de ultrassom ( $75,11 \text{ W/cm}^2$ ), quando o ciclo de pulso é mantido constante nos níveis -1 e +1, respectivamente. De acordo com Chemat et al. (2017), a intensidade do ultrassom é um parâmetro relevante que afeta fortemente a eficiência da extração, pois seu aumento provoca um forte colapso da bolha, quebrando as estruturas da planta.

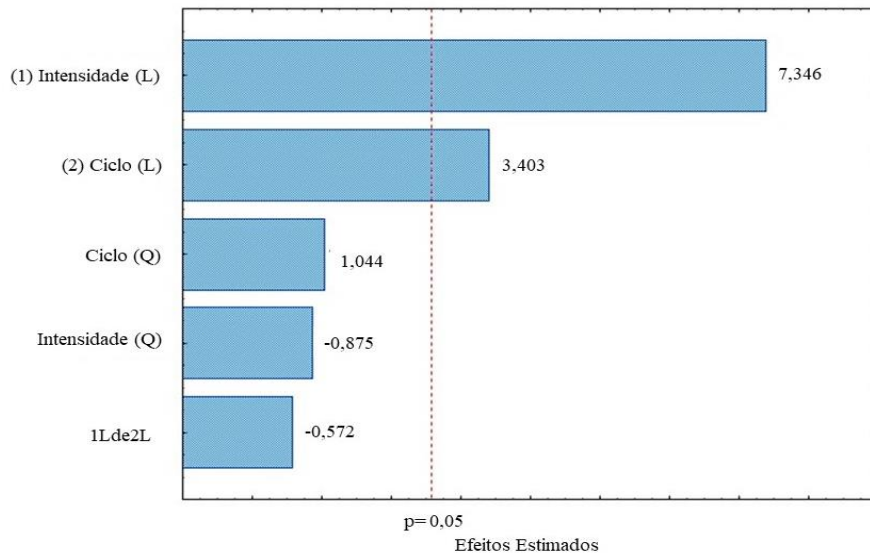
O termo quadrático para intensidade de ultrassom mostrou um efeito negativo nos rendimentos da matriz. Os sinais negativos do termo quadrático indicam a presença de um ponto máximo para a intensidade do ultrassom na faixa avaliada, mostrando que seria interessante otimizar a intensidade do ultrassom antes das extrações em maior escala (Kulkarni e Rathod, 2014), uma vez que pode reduzir os custos de energia (Sallet et al., 2019).

A fim de mostrar a influência da intensidade do ultrassom e do ciclo de pulso no rendimento de extração, gráficos de contorno foram gerados (Figura 3). A EAU dos extratos dos frutos de *Solanum viarum* apresentaram rendimento máximo de extração para intensidade de ultrassom variando de  $55 \text{ W/cm}^2$  a  $85 \text{ W/cm}^2$ , e ciclo de pulso variando de 0,5 a 1. Para as raízes, o rendimento máximo de extração foi obtido para intensidade de ultrassom variando de  $60 \text{ W/cm}^2$  a  $85 \text{ W/cm}^2$  e ciclo de pulso variando de 0,75 a 1. O aumento da intensidade e do ciclo de pulso favoreceu a recuperação dos extratos das matrizes estudadas neste trabalho.

Figura 2. Gráfico de Pareto que expressa o efeito das variáveis do processo no rendimento de extração usando EAU das matrizes (a) futos e (b) raízes.

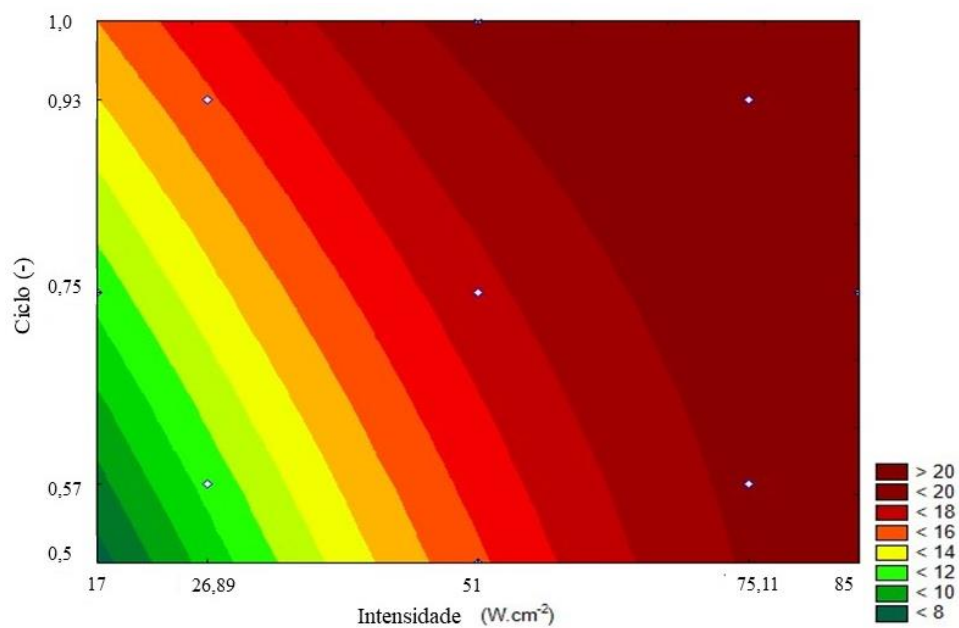


(a)

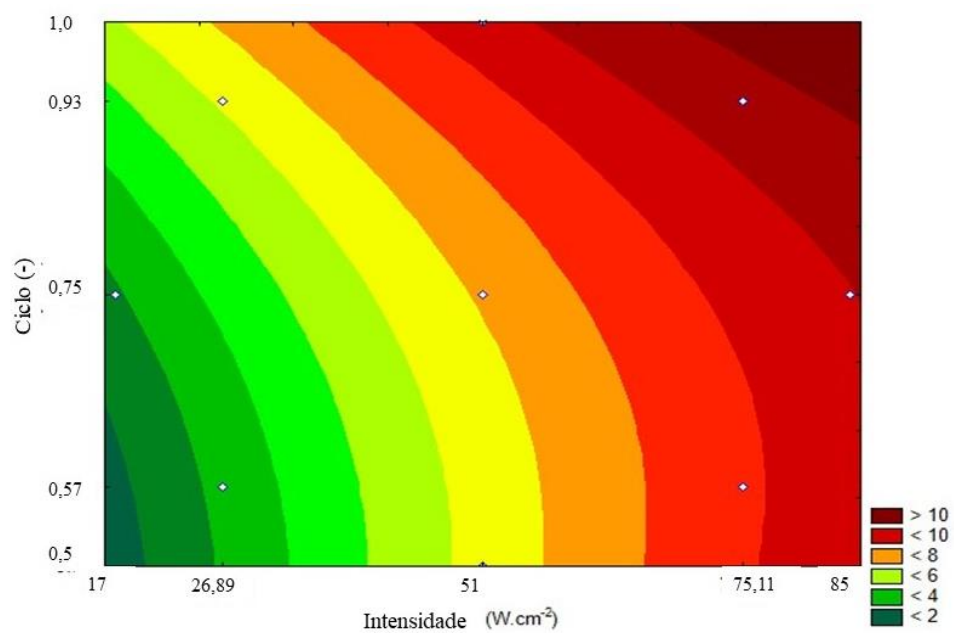


(b)

Figura 3. Gráficos de contorno que expressam a influência das variáveis do processo no rendimento de extração usando EAU para matrizes de frutos (a) e raízes (b).



(a)



(b)



A técnica de extração com ultrassom também apresentou rendimentos superiores às técnicas de EFS-CO<sub>2</sub> e Soxhlet, e em menor tempo. As extrações assistidas com ultrassom aumentaram a eficiência da extração do óleo de canola em comparação com o método de Soxhlet (Jalili et al., 2018). Efeitos positivos da extração por ultrassom para a obtenção de extratos de *Euphorbia tirucalli* (Vuong et al., 2015) e *Moringa peregrina* (Mohammadpour et al., 2019) também foram relatados. De acordo com Mohammadpour et al. (2019), a aplicação do ultrassom tornou-se um método recente e promissor na extração de óleo vegetal.

Para melhor compreender a eficiência das diferentes técnicas e as mudanças estruturais que ocorreram antes e após as extrações, a superfície das partículas das matrizes de *Solanum viarum* foram avaliadas por MEV. Frutose sementes foram analisadas separadamente. A superfície dos tecidos das matrizes vegetais mostrou integridade antes da extração, mas foram ligeiramente danificadas após as extrações. Com a aplicação de todas as técnicas, houve mudanças na superfície do tecido (Figuras 4 e 5).

A EFS-CO<sub>2</sub> apresentou danos às células na forma de rachaduras e descamação, muito maiores do que quando o Soxhlet foi aplicado. Na maceração, ocorreu um esmagamento, enquanto a cavitação rompe toda a superfície das folhas. O processo da extração por ultrassom mostrou mudanças mais visíveis, como aberturas nas estruturas celulares que poderiam ser correlacionadas com a ruptura explosiva. Isso poderia ser uma evidência da ocorrência de fenômenos de cavitação, que facilitam o processo de extração geral (Patil e Akamanchi, 2017). As imagens revelaram que mais fissuras e poros foram criados pelo ultrassom, favorecendo a extração mais rapidamente.

A implosão de bolhas de cavitação na superfície das matrizes induz a erosão das estruturas liberadas no meio de extração. Alguns autores relatam a erosão do material vegetal quando tratado por ultrassom. Por exemplo, a EAU das folhas do boldo foi estudada por Petigny et al. (2013) usando uma sonda de ultrassom. Mohammadpour et al. (2019) também descreveram mudanças estruturais em *Moringa peregrina* usando diferentes técnicas de extração (EAU e Soxhlet). Zhou et al. (2018) também observaram danos em folhas de amoreira pela técnica de EAU, indicando este método como conveniente e versátil para a extração eficaz de produtos fitoquímicos bioativos. Zhong et al. (2018) sugerem que o ultrassom é a forma mais eficaz de destruir a estrutura celular das amostras de sementes e favorecer a liberação do óleo de extração com solvente utilizado.



Figura 4. Imagens de MEV da raiz antes e depois da extração: (A) Natural; (B) Extração por Soxhlet; (C) EFS-CO<sub>2</sub>; (D) Maceração, e (E) EAU.

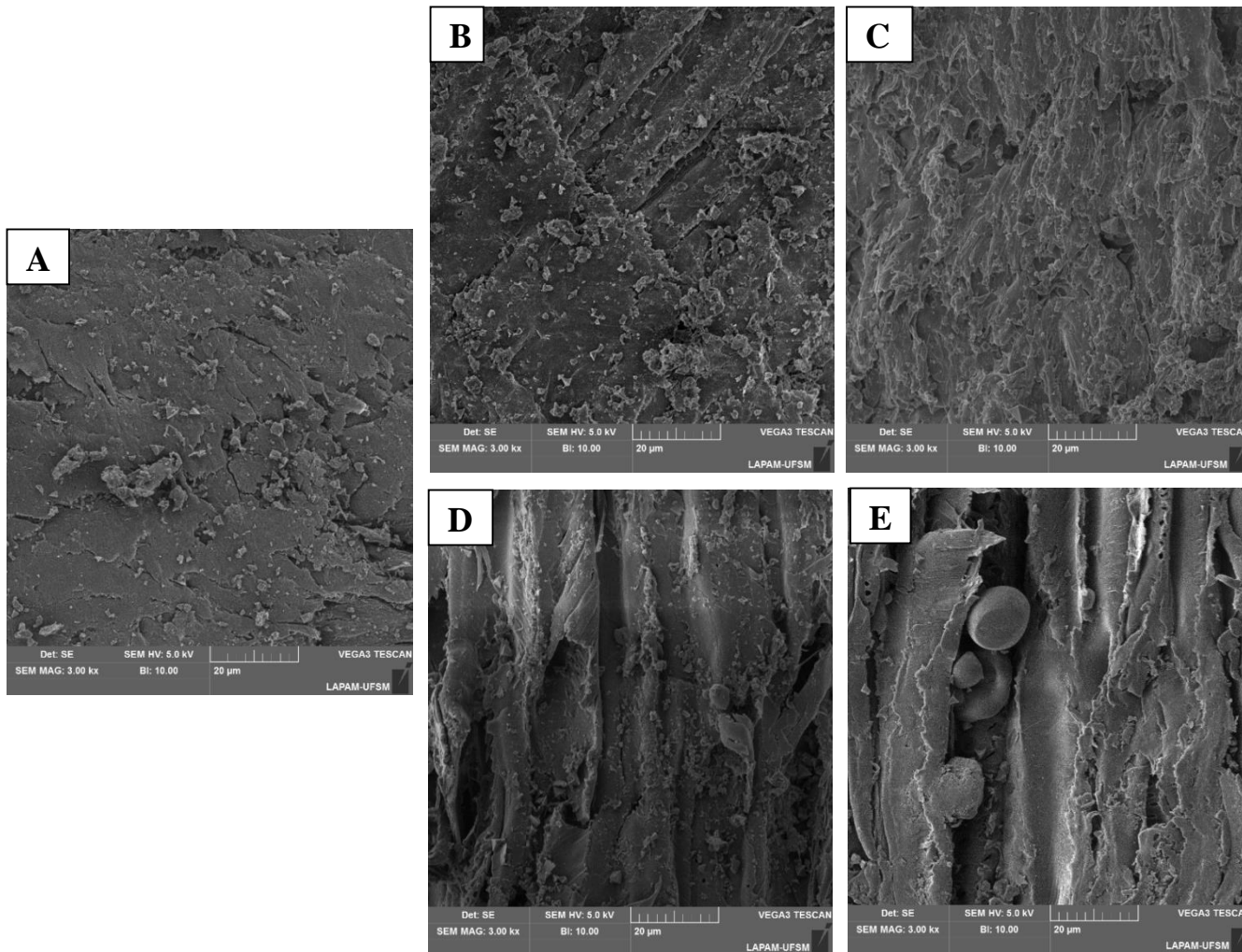
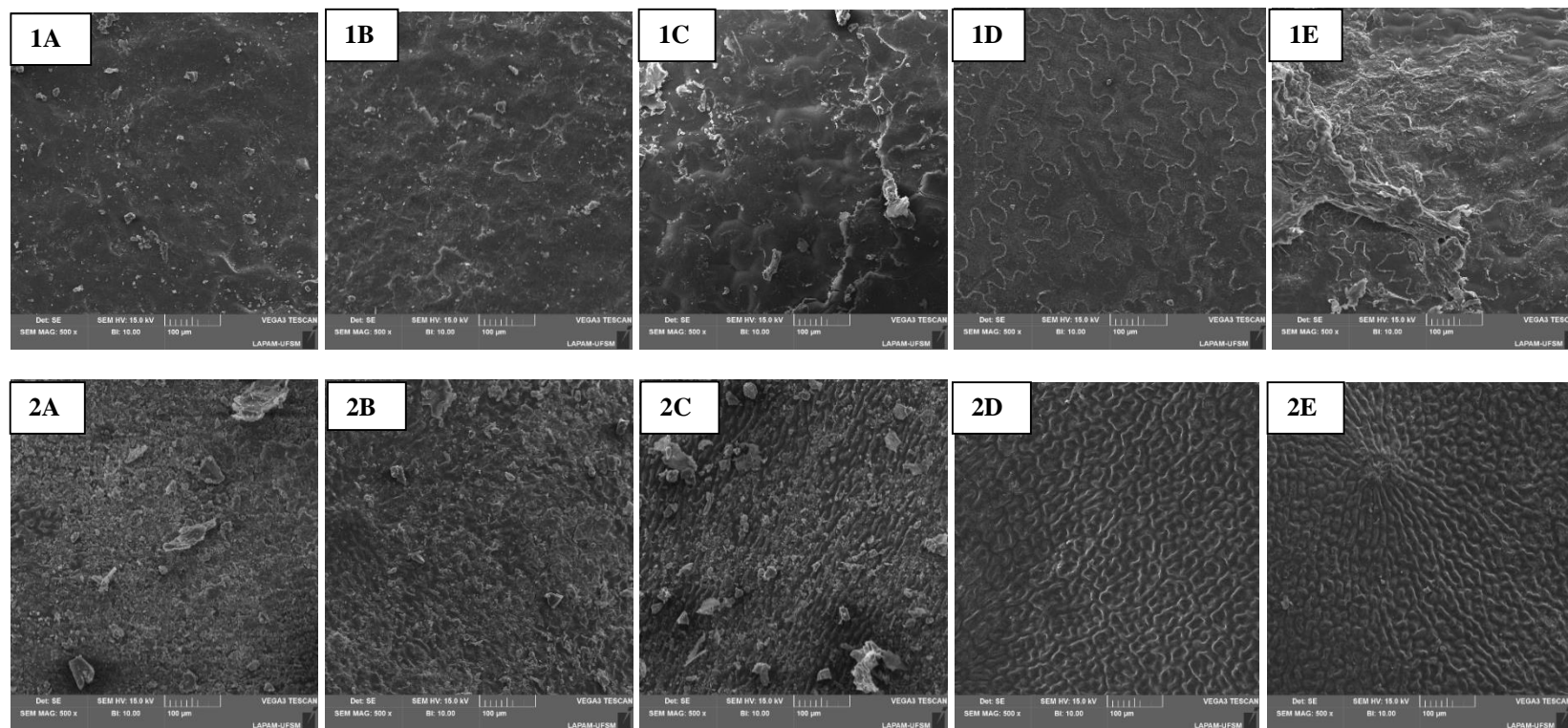


Figura 5. Imagens de MEV do fruto antes e depois da extração: (A) Natural; (B) Extração por Soxhlet; (C) EFS-CO<sub>2</sub>; (D) Maceração, e (E) EAU. (1) sementes e (2) cascas.





## Composição química

Os extratos obtidos dos frutos e raízes de *Solanum viarum* contêm constituintes fitoquímicos. A maioria deles são conhecidos por serem compostos biologicamente ativos e responsáveis por exibir várias atividades. Vinte compostos foram identificados e quantificados em extratos de ambas as matrizes obtidas em diferentes condições usando EFS-CO<sub>2</sub> (Tabela 3).

Quase todos os compostos identificados foram encontrados nas duas partes morfológicas estudadas. No entanto, a porcentagem é diferente para alguns deles. Os principais compostos para EFS-CO<sub>2</sub> em ambas as matrizes foram ácido 1,2- benzenedicarboxylic acid, octadecanoic acid, hexadecanoic acid e vitamin E. Esses compostos também foram identificados e relatados quanto à sua bioatividade por vários autores. Por exemplo, Ali et al. (2017) descreveram o ácido 1,2- Benzenedicarboxylic acid como um composto antifúngico, responsável pelo controle do crescimento de *Fusarium oxysporum* e *Lycopersici* sp.. Verma et al. (2014) extraíram o ácido 1,2- benzenedicarboxylic acid de *Aspergillus flavipes* e testaram sua eficácia antifúngica contra *Sclerotin sclerotiorum*. De acordo com Govindappa et al. (2014) e Krishnan et al. (2014), tais autores relataram atividades antimicrobiana, citotóxica, antioxidante, antiinflamatória e antiviral para este composto referenciado.

De acordo com Linton et al. (2013), o octadecanoic acid exibe atividades antiviral, antioxidante e antibacteriana, e de acordo com Selvamangai e Bhaskar (2012)), é responsável por ações hipocolesterolêmicas, antiartríticas e nematicidas. Sanseera et al. (2013) estudaram a composição química e as atividades biológicas do óleo essencial das folhas de *Cleidion javanicum*, que apresentou significativa atividade antimicrobiana, antioxidante e anticâncer, sendo sua composição hexadecanoic acid (26,77%). Selvamangai e Bhaskar (2012) e Agoramoorthy et al. (2007) atribuíram atividades antiinflamatória, antioxidante e antibacteriana a este composto.



Tabela 3. Composição química obtida por EFS-CO<sub>2</sub> e Soxhlet das matrizes frutos e raízes de *Solanum viarum*.

Ensaio	Área relativa (%)											
	Frutos						Raízes					
	EFS-CO <sub>2</sub>					Soxhlet	EFS -CO <sub>2</sub>					Soxhlet
	1	2	3	4	5/6/7		1	2	3	4	5/6/7	
<b>Compostos</b>												
2-Heptenal	1,13	2,56	-	1,66	-	1,04	1,85	2,50	2,10	1,20	1,89	0,89
2,4-Decadienal	3,58	1,66	-	-	-	1,52	2,0	1,86	2,86	2,56	2,10	1,52
Hexadecamethylcyclooctasiloxane	1,05	1,01	0,89	2,61	2,52	1,68	1,52	1,58	1,89	1,92	1,83	2,00
2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-	1,38	1,14	0,98	2,53	1,04	2,0	0,89	0,65	0,96	0,88	1,00	0,70
3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	0,92	1,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzoic acid	1,22	1,20	1,31	1,27	1,23	2,49	1,69	1,63	2,89	3,89	4,72	1,00
9-Octadecenoic acid	1,50	2,71	1,57	1,85	3,21	1,42	1,86	1,05	1,89	1,23	2,05	0,89
Hexadecanoic acid	11,15	8,67	9,22	8,45	8,08	4,37	8,56	4,52	5,56	3,58	5,58	2,05
Nonadecane	1,93	1,16	1,10	2,56	1,96	2,89	1,56	1,30	1,89	1,93	2,0	0,20
9,12-Octadecanoic acid	12,55	10,0	15,10	18,11	19,10	3,41	10,52	11,65	13,56	10,58	9,85	5,58
1,2-Benzenedicarboxylic acid	40,0	25,0	22,31	25,08	25,28	4,91	25,58	22,10	25,58	30,52	28,56	10,52
Octadecanal	2,30	3,26	-	1,26	-	4,10	2,86	2,10	2,00	2,23	2,32	1,56
Neophytadiene	-	1,09	1,19	-	-	1,56	2,00	1,50	1,60	0,76	0,86	0,86
LINALOOL	1,90	1,10	2,45	1,94	2,20	1,00	1,01	1,02	2,02	2,65	3,58	-
EICOSANE	-	2,37	1,25	1,52	2,58	-	1,58	1,96	1,86	2,00	2,01	1,20
Vitamin E	10,84	10,17	20,31	19,81	20,88	5,58	8,56	6,58	7,62	8,58	8,02	4,28
Farnesol 2	2,25	1,05	2,89	1,60	3,00	1,62	1,89	1,25	1,10	2,0	1,96	-
Octadecane	2,52	2,85	3,96	3,69	3,85	1,02	1,50	1,83	2,76	3,06	3,89	0,80
Celidoniol	1,00	2,00	1,30	2,89	2,35	0,89	1,56	0,89	0,96	0,89	1,10	-
2,6,10,14,18-Pentamethyl	0,82	1,50	1,12	1,00	1,72	0,50	0,96	1,00	-	-	-	-
Waxes	1,96	18,38	13,05	2,17	1,00	60	22,05	33,03	20,90	19,54	16,68	65,95



Outro aspecto a ser destacado são os maiores rendimentos e os compostos alvo recuperados nos processos. Diferentes compostos foram observados sob condições de temperatura e pressão (Tabela 3). A condição de maior rendimento não foi a mesma com a maior porcentagem de área nos compostos majoritários. Esses achados indicam que o EFS-CO<sub>2</sub> foi mais seletiva para extrair o maior número de compostos em menor quantidade de extrato. Os compostos interferentes ou inibidores podem ser extraídos em grandes quantidades sob melhores condições de rendimento, reduzindo assim a qualidade do extrato (Confortin et al., 2017). Ao comparar a área percentual dos compostos, é evidente que o CO<sub>2</sub> supercrítico excedeu o método convencional de extração de Soxhlet. Embora a técnica de Soxhlet possa proporcionar maiores rendimentos, o extrato possui maiores quantidades de ceras, influenciando na identificação de compostos bioativos.

Os 46 compostos identificados usando EAU (Tabela 4) foram superiores aos obtidos pelo EFS-CO<sub>2</sub> (solvente apolar). Os resultados encontrados neste trabalho podem ser explicados pela maior solubilidade dos extratos em solução hidroalcoólica, quando comparada ao CO<sub>2</sub>. Como o CO<sub>2</sub> é apolar, a solubilidade de compostos altamente polares é baixa (Cavaleiro, 2018; Alvarez et al., 2019). Existem alguns relatórios que confirmam que o método assistido por ultrassom resulta em aumento do rendimento de extração de vários fitoquímicos com o tempo de extração reduzido e menor consumo de solvente (Jalili et al., 2018; Zhong et al., 2018).

O maior número de compostos foi obtido a 85W/cm<sup>2</sup> de intensidade de ultrassom e 0,75 de ciclo de pulso, mostrando que altas intensidades de ultrassom levam à extração de maior quantidade de compostos bioativos. Conforme mencionado anteriormente, o efeito positivo do aumento do poder sobre o rendimento pode ser explicado por colapsos violentos de bolhas de cavitação, causando destruição adicional das paredes celulares da matéria-prima e, portanto, facilitando o acesso do solvente aos analitos (Goltz et al., 2018; Santos et al., 2019).

Os principais compostos foram os mesmos para ambas as matrizes: ácido quínico, citidina, ácido 1,2-b benzenedicarboxylic,  $\alpha$  Mannofuranoside, octadecenoic acid e Spirosol-5-en-3-ol (Soalsodine). Essas atividades foram relatadas na literatura. Walters et al. (2004) relataram que o 9- octadecenoic acid ou oleic acid é um agente antifúngico contra *Crinipellis perniciososa* e *Pythium ultimum*. Ali et al. (2017) corroboram este resultado, apresentando a atividade fúngica para este composto. Também é descrito como um antimicrobiano e nematicida por Chandrasekaran et al. (2008). O composto milbemycin é relatado como um antiparasitário (Hugar e Londonkar, 2017) e Martin et al. (2017) atribuíram ação antiviral à citidina, que é um composto central da pirimidina que desempenha um papel vital nas atividades

biológicas, como os antifúngicos. O composto Soalsodine é um glicoalcaloide altamente tóxico comumente encontrado na família Solanaceae, descrito por alguns autores (Al et al., 2016; Kausar e Singh, 2018; Patel et al., 2013; Yuan et al., 2017). Zeng et al. (2009) relataram atividade anti-inflamatória do ácido quínico.

Além disso, como pode ser observado nas Tabelas 3 e 4, outros compostos bioativos foram identificados em extratos de *Solanum viarum* (Tabela 5). Os achados de constituintes químicos corroboraram com o descrito por Kausar e Singh (2018) ao estudar as folhas de *Solanum viarum*, como Soalsodine e quinic acid. Braguini et al. (2018) relataram toxicidade dos frutos de *Solanum viarum* contra *Artemia salina*. Foram descritos altos percentuais de polifenóis e taninos, concluindo que os frutos são altamente tóxicos e podem representar um risco para o gado por estarem disponíveis nas pastagens.

## CONCLUSÃO

Em conclusão, este estudo mostrou que maiores temperaturas e maiores pressões apresentaram maiores rendimentos de extração para a EFS-CO<sub>2</sub>. No entanto, essa condição não forneceu a maior porcentagem dos compostos principais. Ao comparar esta técnica com o Soxhlet, ela apresentou rendimentos mais elevados. No entanto, a superioridade do EFS-CO<sub>2</sub> quanto à composição é visível. Para as EAU, os rendimentos e a composição química foram superiores à EFS-CO<sub>2</sub>, observando que maiores valores de intensidade e ciclo de pulso favoreceram o aumento dos rendimentos. Em geral, pode-se concluir que as técnicas de EAU e EFS-CO<sub>2</sub> são eficientes para extração de *Solanum viarum*, e os extratos obtidos são uma fonte potencial de compostos bioativos, que devem ser mais bem estudados quanto às atividades potenciais.

Tabela 4. Composição química obtida por EAU e controle das matrizes frutos e raízes de *Solanum viarum*.

Ensaio	Área Relativa (%)																				
	Frutos										Raízes										
	US					Controle					US					Controle					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9/10/11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9/10/11	12	
Compostos																					
2-Propenoic acid	-	0,56	-	-	0,59	-	0,57	0,88	0,67	2,25	0,63	1,59	1,89	1,89	0,96	1,56	0,44	1,37	1,18	2,00	
Spirosol-5-en-3-ol (Soalsodine)	4,20	3,68	3,96	5,00	4,70	4,25	2,55	4,25	4,56	2,89	4,25	4,52	1,56	1,26	2,45	6,58	5,89	4,52	3,56	2,56	
Acetic acid, methyl ester	1,47	1,26	0,68	1,58	1,43	-	1,29	1,58	2,34	3,02	1,09	1,56	1,45	2,56	1,00	-	-	-	-	1,96	
2,3-Butanediol	1,00	2,75	1,74	2,00	2,14	1,94	2,37	2,46	2,69	2,39	2,54	1,52	1,45	2,75	1,96	-	1,75	-	-	1,89	
dl-Glyceraldehyde	3,83	2,15	1,84	2,56	2,83	0,94	2,61	2,56	1,42	2,24	2,65	2,69	2,98	2,23	2,01	-	0,30	-	-	1,51	
Methane, sulfinylbis	0,85	0,48	0,22	-	0,48	0,94	0,39	0,69	-	1,03	1,31	1,42	1,52	1,01	1,02	-	0,91	-	0,92	-	
2-Propanone, 1,3-dihydroxy	0,74	0,54	-	-	0,52	-	0,91	-	-	1,33	1,32	1,53	1,69	1,01	1,15	-	0,43	0,53	1,18	-	
1,2-Cyclopentanedione	0,58	0,54	2,30	0,47	0,70	0,94	-	0,61	0,98	0,82	1,15	1,96	1,63	2,01	1,00	-	-	1,50	-	-	
Piperazine	4,81	4,95	3,20	4,19	4,77	4,60	4,14	4,40	3,68	2,63	2,17	2,96	1,83	2,0	1,77	3,25	0,41	2,28	1,29	1,24	
Hydroxy dimethyl furanone	0,85	1,05	1,82	1,30	0,8	1,22	1,76	1,18	1,49	1,41	1,42	1,16	1,32	1,45	1,36	-	1,02	-	-	-	
Anhydro – sugar	1,08	1,25	1,97	1,48	0,8	0,81	1,20	-	1,47	1,57	0,82	0,96	1,20	1,30	0,98	-	0,92	-	1,56	-	
1,2,3-Propanetriol	5,72	3,59	5,08	2,42	3,02	3,26	3,25	3,56	3,25	2,56	3,12	2,30	1,26	1,89	1,30	2,03	1,22	1,14	3,29	7,06	
2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	1,15	2,04	0,65	1,41	1,00	1,40	2,11	1,65	1,79	1,53	1,10	1,90	1,20	1,96	1,90	3,02	2,02	2,30	2,90	1,20	
Carboxylic acid	0,65	0,59	0,56	0,76	0,86	0,41	0,87	0,87	0,82	0,74	0,80	0,89	0,96	1,10	1,00	-	-	-	1,79	-	
Benzofuran, 2,3-dihydro	1,11	0,99	0,89	2,55	1,45	2,62	1,56	2,90	0,57	1,89	1,63	1,30	1,56	1,54	1,36	3,75	1,25	1,96	1,89	-	
Furancarboxaldehyde	1,95	1,87	1,44	-	2,00	1,66	1,86	-	2,18	1,55	1,45	2,01	2,03	2,65	2,64	-	2,65	2,70	2,30	2,00	
Benzenedicarboxylic acid	8,23	7,75	7,74	7,19	7,14	6,94	7,37	7,46	5,69	5,39	8,43	5,18	7,15	9,56	5,56	7,27	6,97	9,13	6,23	8,56	
2-Methoxy-4-vinylphenol	1,14	1,33	1,79	3,11	2,56	2,45	0,91	1,02	0,83	1,15	2,33	2,10	1,12	4,02	4,04	4,09	2,38	3,98	4,20	-	
Cytidine	20,0	19,0	19,6	18,7	18,7	17,0	17,1	17,7	18,65	17,12	7,93	6,52	5,01	7,52	8,82	9,38	7,00	9,52	10,75	15,09	
Quinic acid	7,75	8,08	5,66	7,00	7,76	8,82	7,74	7,27	7,51	7,53	14,0	15,5	15,6	18,0	15,1	18,2	15,8	17,2	12,36	15,45	

$\alpha$ Mannofuranoside	5,60	5,47	4,16	5,20	3,55	5,05	2,15	2,44	4,25	2,25	4,12	4,98	4,52	3,12	2,59	2,45	3,56	2,85	3,56	2,52
Hexadecanoic acid	0,74	1,00	0,80	0,96	0,49	1,30	1,26	0,96	1,60	1,26	3,12	4,10	4,11	4,52	3,53	0,57	4,54	3,56	5,56	4,85
9-octadecenoic acid	4,06	4,26	3,24	5,26	4,25	4,26	4,28	3,25	3,96	0,40	4,41	5,10	6,07	8,07	8,97	9,4	8,79	14,9	8,98	4,85
Butane-1,2,4-triol, 3-benzyloxy-	-	-	1,92	0,39	-	-	-	0,51	1,94	4,72	0,89	1,36	1,96	1,63	1,36	-	-	-	-	-
2-Furanmethanol	-	0,44	0,75	1,16	0,50	-	1,93	0,77	0,64	0,63	1,20	1,36	1,52	-	1,63	-	1,65	-	-	1,32
1,2-Ethanediol, diacetate	-	0,38	-	0,77	-	-	0,71	-	-	0,50	1,15	1,20	1,63	-	1,32	-	1,59	-	-	-
Cyclopentanone	-	0,24	-	0,33	-	-	-	-	0,42	0,40	0,58	0,69	0,96	-	0,63	-	1,89	-	-	-
1,3-Propanediol	-	2,07	-	-	-	2,65	-	-	-	2,00	1,12	1,36	1,67	-	1,65	-	1,79	-	-	-
4H-Pyran-4-one, 3- hydroxy-2-methyl	3,25	1,58	0,96	3,6	3,12	1,06	1,85	2,02	2,97	1,84	0,62	3,12	4,20	3,50	2,73	1,71	1,46	3,10	4,32	6,28
Phenol, 2-methoxy	3,65	3,30	2,90	2,30	3,64	3,43	3,81	1,48	2,58	1,21	2,17	3,21	3,15	1,00	2,35	6,73	3,22	2,52	4,03	2,20
2-oxepanone	-	-	0,51	-	-	-	0,96	0,33	-	-	1,06	0,32	1,12	-	-	-	-	-	-	2,90
Propionoin	1,65	0,98	1,38	2,32	-	-	-	-	-	1,53	1,12	1,63	1,65	-	-	-	-	-	-	2,50
Ethanone,1-(2,6,6- trimethyl- 1-cyclohexen- 1-yl)	-	-	0,72	-	-	1,45	-	1,79	1,16	1,60	-	-	-	-	-	-	0,48	-	-	-
2,7-dimethyl-4,5- octandiol	-	-	1,17	0,62	0,80	0,84	0,90	0,50	-	0,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-Methyl-2,5- dimethoxybenzaldehyde	-	-	2,31	-	-	-	1,79	-	-	2,89	0,46	-	-	-	-	3,06	1,59	1,02	1,40	-
1H-purin-6-amine	-	-	-	-	1,00	0,24	1,00	1,01	0,33	-	0,35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucitol	0,89	0,84	0,90	1,00	0,87	1,12	1,14	1,13	1,56	1,29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dl-Proline	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,71	-	-	-	-	-	-	-	-	1,49
1,8- Diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ene	2,56	3,58	2,07	4,0	3,56	4,48	3,56	2,26	2,89	2,45	2,21	1,58	1,67	1,23	4,22	7,25	2,45	1,12	3,45	3,27
Ethyl linoleolate	3,25	4,48	4,12	5,33	5,53	5,70	5,74	5,84	5,30	6,25	3,61	1,10	2,10	3,20	3,75	2,50	6,94	5,12	6,29	3,15
2-Pyrrolidinone, 1- methyl-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,51	-	-	-	-	-	0,46	0,32	0,81	-
Decanoic acid	3,56	3,23	6,12	2,12	3,25	2,26	3,56	4,25	3,65	2,15	2,42	2,15	3,12	0,88	1,71	1,50	0,60	0,98	1,10	-
N-Methyl-L-prolinol	-	-	-	-	1,00	-	1,00	1,96	1,52	2,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Milbemycin	1,12	1,52	2,69	-	1,63	2,96	1,65	6,41	2,52	1,63	3,92	4,39	4,60	3,56	2,56	3,44	5,52	4,26	4,00	3,15
Ascaridole epoxide	2,56	2,15	2,65	2,96	2,60	2,72	2,20	2,10	2,12	1,52	3,10	2,78	1,56	3,58	2,59	2,25	2,16	2,10	1,10	1,00



Tabela 5. Atividades relatadas na literatura de alguns compostos encontrados neste trabalho.

<b>Composto</b>	<b>Bioatividade</b>	<b>Referência</b>
Farnesol	Citotóxico Usado em dermatologia, Antifungico	Santos et al. (2019) Piochon al. (2009) Pauli (2006)
2-heptenal	Composto aromático	Miranda et al.(2008) Chen et al.(2018)
2,4-decadienal	Composto aromático	Miranda et al.(2008) Chen et al. (2018)
Phenol	Antimicrobiano Antioxidante Anti-inflamatório	Muthulakshmi et al.(2012) Barretto and Vootla (2018)
Celidoniol	Antimicrobiano Anti-inflamatório	Barretto and Vootla (2018)
Nonadecane	Antimicrobiano Citotóxico	Barretto and Vootla (2018) Hsouna et al. (2011)
Eicosane	Antitumoral	Amanian and Brindha (2013)
Octadecane	Antifungico	Abu backer and Devi (2015)
Glucitol	Surfactantes Emulsificante e estabilizante	Marques et al. (2016) Aminah et al. (2013)
Ethyl linoleolate	Fragancia Antimicrobiano Antioxidante Anticancer	Sanseera et al. (2013)
Linalool	Antioxidante Anticancer Antimicrobiano	Lichtfouse (2013)
Propanetriol	Antimicrobiano Anti-inflamatório Anticancer Antifungico	Casuga et al. (2016) Foo et al. (2015)
2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	Antimicrobial Anti-inflammatory Antioxidant	Foo et al. (2015)
Benzoic acid	Antimicrobiano	Foo et al. (2015)
2-Methoxy-4-vinylphenol	Antimicrobiano Antioxidante Anti-inflamatório Analgésico	Foo et al. (2015)
Benzofuran, 2,3-dihydro	Antimicrobiano Anti-inflamatório	Foo et al. (2015)
Phenol, 2-methoxy	Antimicrobiano	Foo et al. (2015)
Decanoic acid	Nematicida Pesticida	Selvamangai and Bhaskar (2012)

2-Propenoic acid	Alta toxicidade Inseticida Herbicida Antifungico	Fraga et al. (2017)
Piperazine	Nematicida	Demuner et al. (2001)
Mannofuranoside	Anti-bacteriano Antifungico	Hugar and Londonkar (2017)
Ascaridole	Hepatotoxico Inseticida	O'Neill et al. (2010) Bossou et al. (2013) De Castro et al. (2016)
1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene	Herbicida	Cao et al. (2011)
Derivados de pirano - Piretróides	Antifungico Antimicrobiano Inseticida	Chattapadhyay and Dureja (2006) Viegas Júnior (2003)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abu backer, M. N.; Devi, P. K. In vitro antifungal potentials of bioactive compounds heptadecane, 9- hexyl and ethyl iso-allocholate isolated from *Lepidagathis cristata* Willd. (Acanthaceae) Leaf. British Biomedical Bulletin, 3, 336-343 (2015).

Agoramoorthy, G.; Chandrasekaran, M.; Venkatesalu, V.; Hsu, M. J. Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye Mangrove from India. Brazilian Journal Microbiology, 38, 739–742 (2007).

Al, S. S.; Eltayeb, E. A.; Kamal, Y. T.; Khan, M. S.; Ahmad, S. Variations in the cytotoxic glycoalkaloids Solamargine and Solasonine in different parts of the *Solanum incanum* plant during its growth and development in oman. Integrative Medicine Research, 10, 813–822 (2016).

Aladić, K.; Jarni, K.; Barbir, T.; Vidović, S.; Vladić, J.; Bilić, M.; Jokić, S. Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil. Industrial Crops Products, 76, 472–478 (2015).

Ali, A.; Javaid, A.; Shoaib, A. GC-MS analysis and antifungal activity of methanolic root extract of *Chenopodium album* against *Sclerotium rolfsii*. Planta Daninha, 35, 1–8 (2017).

Alvarez, M. V.; Cabred, S.; Ramirez, C. L.; Fanovich, M. A. Valorization of an agroindustrial soybean residue by supercritical fluid extraction of phytochemical compounds. The Journal of Supercritical Fluids, 143, 90–96 (2019).

Amanian, R. S.; Brindha, P.; In-vitro, antioxidant and GC-MS studies on *Centratherum punctatum* Cass. I. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5, 3–6 (2013).

Aminah; Jusoff, K.; St. Hadijah; Nuraeni; Reta; Palad Marlina, S.; Muchtar, A. H.; Nonci, M. Increasing soybean (*Glycine max* L) drought resistance with osmolit sorbitol. Modern Applied Science, 7, 78–85 (2013).

Barretto, D.; Vootla, S. Gc-Ms analysis of bioactive compounds and antimicrobial activity of

*Cryptococcus rajasthanensis* Ky627764 Isolated From *Bombyx mori* gut microflora. International Journal Advan Research, 6, 525–538 (2018).

Bernardo, C. O.; Ascheri, J. L. R.; Chávez, D. W. H.; Carvalho, C. W. P. Ultrasound assisted extraction of yam (*Dioscorea bulbifera*) starch: effect on morphology and functional properties. Starch/Staerke, 70, 1–10 (2018).

Bossou, A. D.; Mangelinckx, S.; Yedomonhan, H.; Boko, P. M.; Akogbeto, M. C.; De Kimpe, N.; Avlessi, F.; Sohounhloue, D. C. K. Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from benin against *Anopheles gambiae* (Giles). Parasites and Vectors, 6 (2013).

Bubalo, M. C.; Vidovi, S.; Radojč, I. Green solvents for green technologies. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 90, 1631-1639 (2015).

Cabaleero, A. S.; Romero-García, J.M.; Castro, E.; Cardona, C.A. Supercritical Fluid Extraction for Enhancing Polyphenolic Compounds Production from Olive Waste Extracts. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, (2018).

Cao, G.; Wang, M.; Wang, M.; Wang, S.; Li, Y.; Li, Z. Synthesis and herbicidal activity of novel sulfonylurea derivatives. Chemical Research in Chinese Universities, 27, 60–65 (2011).

Casuga, F. P.; Castillo, A. L.; Corpuz, M. J. A. T. GC–MS Analysis of bioactive compounds present in different extracts of an endemic plant *Broussonetia luzonica* (Blanco) (Moraceae) leaves. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6, 957–961 (2016).

Chandrasekaran, M.; Kannathasan, K.; Venkatesalu, V. Antimicrobial activity of fatty acid methyl esters of some members of Chenopodiaceae. Zeitschrift fur Naturforsch. Journal of Biosciences, 63, 331–336 (2008).

Chattapadhyay, T. K.; Dureja, P. Antifungal Activity of 4-Methyl-6-Alkyl-2H-Pyran-2-Ones. Journal of Agricultural and Food Chemical 54, 2129–2133 (2006).

Chemat, F.; Rombaut, N.; Sicaire, A. G.; Meullemiestre, A.; Fabiano-Tixier, A. S.; Abert-Vian, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A Review. Ultrasonics Sonochemistry 34, 540–560 (2017).

Chen, Q.; Song, J.; Bi, J.; Meng, X.; Wu, X. Characterization of volatile profile from ten different varieties of Chinese Jujubes by HS-SPME/GC–MS Coupled with E-Nose. Food Research International, 105, 605–615 (2018).

Cipollini, M. L.; Levey, D. J. Why Are Some Fruits Toxic? Glycoalkaloids in solanumand fruit choice by vertebrates. Ecology, 78, 782–798 (1997).

Confortin, T. C.; Todero, I.; Ferreira, J. S.; Brun, T.; Luft, L.; Ugalde, G. A.; Prá, V. D.; Mazutti, M. A.; Zobot, G. L.; Tres, M. V. Extraction and composition of extracts obtained from *Lupinus albus* using supercritical carbon dioxide and compressed liquefied petroleum gas. The Journal of Supercritical Fluids, 128, 395-403 (2017).

Confortin, T. C.; Todero, I.; Luft, L.; Ugalde, G. A.; Mazutti, M. A.; Oliveira, Z. B.; Bottega, E. L.; Knies, A. E.; Zobot, G. L.; Tres, M. V. Oil Yields, protein contents, and cost of manufacturing of oil obtained from different hybrids and sowing dates of Canola. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7, 102972 (2019).

Corbin, C.; Fidel, T.; Leclerc, E. A.; Barakzoy, E.; Sagot, N.; Falguières, A.; Renouard, S.; Blondeau, J. P.; Ferroud, C.; Doussot, J.; et al. Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 26, 176–185 (2015).

Dal Prá, V.; Soares, J. F.; Monego, D. L.; Vendruscolo, R. G.; Freire, D. M. G.; Alexandri, M.; Koutinas, A.; Wagner, R.; Mazutti, M. A.; Da Rosa, M. B. Extraction of bioactive compounds from palm (*Elaeis guineensis*) pressed fiber using different compressed fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*, 112, 51–56 (2016).

Castro, D. S. B.; da Silva, D. B.; Tibúrcio, J. D.; Sobral, M. E. G.; Ferraz, V.; Taranto, A. G.; Serrão, J. E.; de Siqueira, J. M.; Alves, S. N. Larvicidal activity of essential oil of *Peumus boldus* Molina and Its Ascaridole-Enriched Fraction against *Culex quinquefasciatus*. *Experimental Parasitology*, 171, 84–90 (2016).

De Melo, M. M. R.; Silvestre, A. J. D.; Silva, C. M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 92, 115–176 (2014).

Demuner, A.J.; Longue Filho, M.; Barbosa, L.C.; Santos, M.A. Síntese e avaliação da atividade nematicida de derivados da piperazina. *Eclética Química*. 26 (2001).

Easmin, M. S.; Sarker, I.; Ferdosh, S.; Shamsudin, H.; Yunus, B.; Uddin, S.; Sarker, M. R.; Akanda, H.; Abdul, H. P. S. Bioactive compounds and advanced processing technology: *Phaleria macrocarpa* (Sheff) Boerl, a Review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 90, 981-991 (2015).

Elgndi, M. A.; Filip, S.; Pavlić, B.; Vladić, J.; Stanojković, T.; Žižak, Ž.; Zeković, Z. Antioxidative and cytotoxic activity of essential oils and extracts of *Satureja montana* L., *Coriandrum sativum* L. and *Ocimum basilicum* L. Obtained by supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128,128–137 (2017).

Entigu, R.; Lihan, S.; bin Ahmad, I. The Effect of combination of octadecanoic acid, methyl ester and ribavirin against Measles virus. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2,181–184 (2013).

Fariás-Campomanes, A. M.; Rostagno, M. A.; Meireles, M. A. A. Production of polyphenol extracts from *Grape bagasse* using supercritical fluids: yield, extract composition and economic evaluation. *The Journal of Supercritical Fluids*, 77, 70–78 (2013).

Foo, L. W.; Salleh, E.; Nur, S.; Mamat, H. P-53:Extraction and qualitative analysis of *Piper betle* leaves for antimicrobial activities. *International Journal of Engineering Technology Science and Research*, 2, 1–8 (2015).

Fraga, B. M.; González-Coloma, A.; Alegre-Gómez, S.; López-Rodríguez, M.; Amador, L. J.; Díaz, C. E. Bioactive constituents from transformed root cultures of *Nepeta teydea*.

Phytochemistry, 133, 59–68 (2017).

Gadkari, P. V.; Balaraman, M. Mass transfer and kinetic modelling of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of fresh tea leaves (*Camellia sinensis* L.). *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 34, 799–810.

Goltz, C.; Ávila, S.; Barbieri, J. B.; Igarashi-Mafra, L.; Mafra, M. R. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Macela (*Achyrocline satureioides*) extracts. *Industrial Crops and Products*, 115, 227–234 (2018).

Govindappa, M.; Prathap, S.; Vinay, V.; Channabasava, R. Chemical composition of methanol extract of endophytic fungi, *Alternaria* sp. of *Tebebutia argentea* and their antimicrobial and antioxidant activity. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*, 5, 861–869 (2014).

Goyeneche, R.; Fanovich, A.; Rodriguez Rodrigues, C.; Nicolao, M. C.; Di Scala, K. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive compounds from radish leaves: yield, antioxidant capacity and cytotoxicity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 135, 78–83 (2018).

Martín, S.; Grande-pérez, A.; Cuevas, J. M.; Elena, S. F. Putative antiviral role of plant cytidine deaminases [ Version 2 ; Referees : 2 Approved ] Referee Status 0, 1–14 (2017).

Günthardt, B. F.; Hollender, J.; Hungerbühler, K.; Scherlinger, M.; Bucheli, T. D. Comprehensive toxic plants-phytotoxins database and its application in assessing aquatic micropollution potential. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 7577–7588 (2018).

Hsouna, A. Ben; Trigui, M.; Mansour, R. Ben; Jarraya, R. M.; Damak, M.; Jaoua, S. Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, 148, 66–72 (2011).

Hugar, A. L.; Londonkar, R. L. GC-MS Profiling of bioactive components from aqueous extract of pterocarpus *Marsupium*. *International Journal of ChemTech Research*, 10, 557–564 (2017).

Jalili, F.; Jafari, S. M.; Emam-Djomeh, Z.; Malekjani, N.; Farzaneh, V. Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from Canola seeds with the use of response surface methodology. *Food Analytical Methods*, 11, 598–612 (2018).

Kadam, S. U.; Tiwari, B. K.; O'Donnell, C. P. Application of novel extraction technologies for bioactives from *Marine algae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 4667–4675 (2013).

Kausar, M.; Singh, B. K. Pharmacological evaluation of *Solanum viarum* Dunal leaves extract for analgesic and antipyretic activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8, 356–361 (2018).

Kiss, A. A.; Geertman, R.; Wierschem, M.; Skiborowski, M.; Gielen, B.; Jordens, J.; John, J.; Gerven, T. Van. Ultrasound-assisted emerging technologies for chemical processes. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 93, 1219–1227 (2018).

Krishnan, K.; Mani, A.; Jasmine, S. Cytotoxic activity of bioactive compound 1, 2- Benzene Dicarboxylic Acid, Mono 2- Ethylhexyl Ester extracted from a marine derived *Streptomyces* sp. VITSJK8. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, 3, 246–254 (2014).

Kulkarni, V. M.; Rathod, V. K. Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of Mangiferin from *Mangifera indica* Leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 606–611(2014).

Lichtfouse, E. *Sustainable Agriculture Reviews*; Vol. 12. (2013)

Luciano Braguini, W.; Valendorf Pires, N.; Bianchin Alves, B. Phytochemical analysis, antioxidant properties and brine shrimp lethality of unripe fruits of *Solanum viarum*. *Journal of Young Pharmacists*, 10, 159–163 (2018).

Marques, C.; Tarek, R.; Sara, M.; Brar, S. K. Sorbitol Production From Biomass and Its Global Market. *Platform Chemical Biorefinery* 0, 217-227 (2016).

Martinez-Correa, H. A.; Bitencourt, R. G.; Kayano, A. C. A. V.; Magalhães, P. M.; Costa, F. T. M.; Cabral, F. A. Integrated extraction process to obtain bioactive extracts of *Artemisia annua* L. leaves using supercritical CO<sub>2</sub>, ethanol and water. *Industrial Crops and Products*, 95, 535–542 (2017).

Mentz, L. A.; Lutzemberger, L.; Schenkel, E. P. Da flora medicinal do Rio Grande do Sul: notas sobre a obra de D'ávila (1910). *Caderno de Farmácia*, 5, 25–48 (1997).

Milner, S. E.; Brunton, N. P.; Jones, P. W.; O'Brien, N. M.; Collins, S. G.; Maguire, A. R. Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from *Solanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 3454–3484 (2011).

Miranda, A. L. De; Ribeiro, M. C.; Felipe, R.; Moreira, A.; Alberto, C.; Maria, B. De. Volatile profile of heated soybean oil treated with quercetin and chlorogenic acid. *Food Science and Technology*, 8, 949–952 (2008).

Mohammadpour, H.; Sadrameli, S. M.; Eslami, F.; Asoodeh, A. Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Moringa peregrina* oil with response surface methodology and comparison with soxhlet method. *Industrial Crops and Products*, 131, 106–116 (2019).

Moraes, M. N.; Zabet, G. L.; Meireles, M. A. A. Extraction of tocotrienols from annatto seeds by a pseudo continuously operated SFE process integrated with low-pressure solvent extraction for bixin production. *The Journal of Supercrit Fluids*, 96, 262–271 (2015).

Muthulakshmi, A.; R, J. M.; Mohan, V. R. GC-MS Analysis of bioactive components of *Feronia elephantum* Correa (Rutaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 02, 69–74 (2012).

O'Neill, P. M.; Barton, V. E.; Ward, S. A. The molecular mechanism of action of artemisinin - the debate continues. *Molecules*, 15, 1705–1721 (2010).

Patel, K.; Singh, R. B.; Patel, D. K. Medicinal Significance, Pharmacological Activities, and Analytical Aspects of Solasodine: A Concise Report of Current Scientific Literature. *Journal of Acute Disease*, 2, 92–98 (2013).

Patil, D. M.; Akamanchi, K. G. Ultrasound-assisted rapid extraction and kinetic modelling of

- influential factors: extraction of camptothecin from *Nothapodytes nimmoniana* Plant. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 582–591 (2017).
- Pauli, A. A -Bisabolol from Chamomile – A Specific ergosterol biosynthesis inhibitor? *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 13, 21–25 (2006).
- Petigny, L.; Périno-issartier, S.; Wajsman, J.; Chemat, F. Batch and continuous ultrasound assisted extraction of Boldo leaves ( *Peumus boldus* Mol.). *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 5750–5764 (2013).
- Picó, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84–99 (2013)
- Piochon, M.; Legault, J.; Gauthier, C.; Pichette, A. Phytochemistry synthesis and cytotoxicity evaluation of natural  $\alpha$ -Bisabolol  $\beta$ -D-Fucopyranoside and Analogues. *Phytochemistry*, 70, 228–236 (2009).
- Prado, J. M.; Dalmolin, I.; Carareto, N. D. D.; Basso, R. C.; Meirelles, A. J. A.; Oliveira, J. V.; Batista, E. A. C.; Meireles, M. A. A. Supercritical fluid extraction of grape seed: process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation. *Journal of Food Engineering*, 109, 249–257 (2012).
- Prakash Maran, J.; Manikandan, S.; Vigna Nivetha, C.; Dinesh, R. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 1145–1157 (2017).
- Rouhani, M. Modeling and Optimization of Ultrasound-assisted green extraction and rapid hptlc analysis of stevioside from *Stevia rebaudiana*. *Industrial Crops and Products*, 132, 226–235 (2019).
- Sallet, D.; Souza, P. O.; Fischer, L. T.; Ugalde, G.; Zobot, G. L.; Mazutti, M. A.; Kuhn, R. C. Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Mortierella isabellina*. *Journal of Food Engineering*, 242, 1–7 (2019).
- Sanseera, D.; Niwatananun, W.; Liawruangrath, B.; Liawruangrath, S.; Baramée, A.; Pyne, S. G. Chemical composition and biological activities of the essential oil from leaves of *Cleidion javanicum*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15, 186-194 (2013).
- Santos-Zea, L.; Gutiérrez-Urbe, J. A.; Benedito, J. Effect of ultrasound intensification on the supercritical fluid extraction of phytochemicals from *Agave salmiana* bagasse. *The Journal of Supercritical Fluids*, 144, 98–107 (2019).
- Santos, K. A.; Gonçalves, J. E.; Cardozo-Filho, L.; da Silva, E. A. Pressurized liquid and ultrasound-assisted extraction of  $\alpha$ -Bisabolol from Candeia (*Eremanthus erythropappus*) Wood. *Industrial Crops and Products*, 130, 428–435 (2019).

- Selvamangai, C.; Bhaskar, A. GC-MS Analysis of Phytocomponents in the Methanolic Extract of *Eupatorium triplinerve*. *International Journal of Drug Development and Research*, 4, 148–153 (2012).
- Soares, J. F.; Dal Prá, V.; De Souza, M.; Lunelli, F. C.; Abaide, E.; Da Silva, J. R. F.; Kuhn, R. C.; Martínez, J.; Mazutti, M. A. Extraction of rice bran oil using supercritical CO<sub>2</sub> and compressed liquefied petroleum gas. *Journal of Food Engineering*, 170, 58–63 (2016).
- Soares, J. F.; Dal Prá, V.; Barrales, F. M.; Santos, P.; Kuhn, R. C.; Rezende, C. A.; Martínez, J.; Mazutti, M. A. Extraction of rice bran oil using supercritical CO<sub>2</sub> combined with ultrasound. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 35, 785–794 (2018).
- Valente, I. de L.; Confortin, T. C.; Luft, L.; Ugalde, G. A.; Zabet, G. L.; Mazutti, M. A.; Terra, L. de M. Extraction of bioactive compounds from *Botryosphaeria dothidea* using supercritical carbon dioxide and compressed liquefied petroleum gas. *The Journal of Supercritical Fluids*, 136, 52–59 (2018).
- Verma, A.; Johri, B. N.; Prakash, A. Antagonistic Evaluation of Bioactive Metabolite from Endophytic Fungus, *Aspergillus Flavipes* KF671231. *Journal of Mycology*, 1–5 (2014).
- Viegas, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, 26, 390–400 (2003).
- Vinatoru, M.; Mason, T. J.; Calinescu, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159–178 (2017).
- Vuong, Q. V.; Nguyen, V. T.; Thanh, D. T.; Bhuyan, D. J.; Goldsmith, C. D.; Sadeqzadeh, E.; Scarlett, C. J.; Bowyer, M. C. Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for euphol from the medicinal plant, *euphorbia tirucalli*, using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 63, 197–202 (2015).
- Walters, D.; Raynor, L.; Mitchell, A.; Walker, R.; Walker, K. Antifungal activities of four fatty acids against plant pathogenic fungi. *Mycopathologia*, 157, 87–90 (2004).
- Wei, Y. qin; Sun, M. man; Fang, H. yan. Dienzyme-assisted salting-out extraction of flavonoids from the seeds of *Cuscuta chinensis* Lam. *Industrial Crops and Products*, 127, 232–236 (2019).
- Yuan, B.; Byrnes, D.; Giurleo, D.; Villani, T.; Simon, J. E.; Wu, Q. Rapid screening of toxic glycoalkaloids and micronutrients in edible nightshades (*Solanum* spp.). *Journal of Food and Drug Analysis*, 26, 751–760 (2017).
- Zabet, G. L.; Moraes, M. N.; Carvalho, P. I. N.; Meireles, M. A. A. New proposal for extracting rosemary compounds: process intensification and economic evaluation. *Industrial Crops and Products*, 77, 758–771 (2015).
- Zabet, G. L.; Moraes, M. N.; Meireles, M. A. A. Process integration for producing tocotrienols-rich oil and bixin-rich extract from Annatto seeds: a techno-economic approach. *Food and Bioproducts Processing*, 109, 122–138 (2018).
- Zabet, G. L.; Silva, E. K.; Azevedo, V. M.; Meireles, M. A. A. Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. *Food Research*



International, 85, 26–35 (2016).

Zeng, K.; Thompson, K. E.; Yates, C. R.; Miller, D. D. Synthesis and biological evaluation of quinic acid derivatives as anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19, 5458–5460 (2009).

Zhong, J.; Wang, Y.; Yang, R.; Liu, X.; Yang, Q.; Qin, X. The application of ultrasound and microwave to increase oil extraction from *Moringa oleifera* seeds. *Industrial Crops and Products*, 120, 1–10 (2018).

Zhou, P.; Wang, X.; Liu, P.; Huang, J.; Wang, C.; Pan, M.; Kuang, Z. Enhanced phenolic compounds extraction from *Morus alba* L. leaves by deep eutectic solvents combined with ultrasonic-assisted extraction. *Industrial Crops and Products*, 120, 147–154 (2018).

## CAPÍTULO 4 – ARTIGO 2

Neste Capítulo estão descritas as metodologias e resultados e discussões para a extração com fluido supercrítico de *Senecio brasiliensis*.

### **Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de compostos de diferentes partes aéreas de *Senecio brasiliensis*: Modelagem matemática e efeitos de parâmetros na qualidade do extrato**

Artigo publicado no Periódico *The Journal of Supercritical Fluids*

<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104589>

#### **Resumo**

Extratos de partes aéreas (folhas, flores e caules) de *Senecio brasiliensis* foram obtidos por extração com dióxido de carbono supercrítico (EFS-CO<sub>2</sub>). O objetivo foi avaliar os efeitos da temperatura e pressão sobre os rendimentos, cinética de extração e composição química. As EFS-CO<sub>2</sub> foram realizadas a 15, 20 e 25 MPa e 40, 50 e 60°C. O método Soxhlet foi utilizado como método comparativo à EFS-CO<sub>2</sub> e os compostos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. O modelo do Sovová foi ajustado aos dados da EFS-CO<sub>2</sub> para descrever as curvas de cinética de extração. Quando se utilizou a EFS-CO<sub>2</sub>, o rendimento mais elevado foi obtido a partir das folhas (1,76% em massa) a 25 MPa e 40°C. Os principais compostos identificados de todas as matrizes foram alfa-humuleno, germacreno-D, esfatulenol, esqualeno, tricosano, pentacosano e dotriacontano. Estes compostos também foram encontrados nos extratos obtidos de folhas e flores. A EFS-CO<sub>2</sub> demonstrou ser uma tecnologia eficiente para a extração de compostos bioativos de *Senecio brasiliensis*.

**Palavras-chave:** *Senecio brasiliensis*, Fluido supercrítico, Parâmetros cinéticos, Metabólitos secundários; Modelo de Sovová; Matrizes vegetais.

#### **1. Introdução**

O gênero *Senecio* (Asteraceae) compreende aproximadamente 1.500 espécies [1], sendo um dos maiores gêneros de plantas com flores [2] e conhecido pela produção de compostos como alcaloides, sesquiterpenos e flavonoides [3]. O gênero *Senecio* possui várias atividades biológicas, incluindo atividades antibacterianas, antioxidantes, antivirais, antitumorais, analgésicas e antiinflamatórias [4-6]. Dentro dessa ampla variedade de espécies

está o *Senecio brasiliensis*, uma espécie nativa do Brasil, popularmente conhecida como "Maria mole" [7, 8].

*Senecio brasiliensis* é uma das espécies mais tóxicas do gênero *Senecio* [9]. É amplamente distribuída no Brasil e é responsável por um grande número de casos de intoxicação espontânea em bovinos [10]. A toxicidade de *Senecio brasiliensis* é dependente da presença de alcaloides pirrolizidínicos, que são fitotoxinas naturais encontradas em muitas plantas em todo o mundo [9], mas também é usado na medicina tradicional, principalmente na forma de infusões para dores de estômago [11].

As plantas compreendem uma ampla gama de metabólitos secundários, que desempenham um papel importante na proteção das plantas para o meio ambiente [8]. Os metabólitos secundários são amplamente utilizados pelos seres humanos como medicamentos, agroquímicos, fragrâncias, biopesticidas e aditivos alimentares [12]. O tipo de extração a ser utilizado na extração desses metabólitos é uma consideração importante [13]. Tradicionalmente, a extração é realizada principalmente por métodos de Soxhlet e maceração. Entretanto, essas técnicas exigem grandes volumes de solventes e altos tempos de extração, além do uso de solventes orgânicos altamente tóxicos [14–16].

Uma alternativa para substituir essas técnicas tradicionais é a extração com fluido supercrítico (EFS) [17]. Uma das principais características da EFS é o uso de fluidos supercríticos. Devido ao alto coeficiente de difusividade e baixa viscosidade, os fluidos supercríticos apresentam uma rápida penetração do solvente na matriz, aumentando a taxa de extração [18]. O dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) é o solvente mais utilizado devido à sua baixa toxicidade, segurança e custo relativamente baixo. Além disso, apresenta baixas condições de trabalho, pressão crítica ( $P_c = 7,38 \text{ MPa}$ ) e temperatura crítica ( $T_c = 31,1^\circ\text{C}$ ) [19].

A análise das curvas de extração global (CEG) por modelos matemáticos pode ser útil para avaliar a extração supercrítica com dióxido de carbono de matrizes vegetais como folhas, raízes, flores e muitas outras. Os modelos matemáticos são divididos em modelos empíricos e teóricos e são usados principalmente para obter informações sobre custos, consumo de solventes e impacto dos principais parâmetros de extração (temperatura, pressão e vazão de solvente) sobre os rendimentos de extração [20]. Entre alguns modelos usados para descrever o CEG, o modelo de Sovová tem sido amplamente usado para ajustar dados experimentais de extração supercrítica de muitas matrizes vegetais [21-23]. Este modelo é baseado em representar as resistências de transferência de massa interna e externa associadas à extração

supercrítica de matrizes vegetais e leva em consideração a fração de células quebradas e não quebradas carregadas no vaso de extração [24].

Considerando o uso desta planta para fins terapêuticos pela população e seus efeitos antagônicos, é necessário entender melhor sua composição química. Embora os efeitos tóxicos de *S. brasiliensis* sejam amplamente discutidos, não há informações sobre rendimentos de extração na literatura. De fato, há um número escasso de estudos sobre a composição química envolvendo as partes aéreas de tais plantas (folhas, flores e caules), particularmente usando EFS-CO<sub>2</sub>. Com base nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da temperatura e pressão supercríticas no rendimento de *Senecio brasiliensis* em comparação à técnica convencional de Soxhlet e determinar a composição química dos extratos obtidos, identificando novos compostos biologicamente ativos. O modelo matemático proposto por Sovová [24] foi utilizado para ajustar as curvas cinéticas aos dados das EFS-CO<sub>2</sub>.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Preparação das amostras

O material vegetal (partes aéreas: folhas, flores e caules) de *Senecio brasiliensis* foi coletado em Getúlio Vargas, Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram secas a 40°C até atingirem massa constante. Em seguida, as amostras foram moídas (Modelo MA048, Marconi, Brasil) e as partículas classificadas pelo Diâmetro Médio de Sauter utilizando as peneiras da série Tyler. As amostras foram mantidas a -4°C até as extrações.

### 2.2 Extração por Soxhlet

Todas as partes aéreas de *Senecio brasiliensis* foram submetidas à extração em um aparato de Soxhlet (Marconi, Modelo MA491/6, Brasil) [25] com n-hexano por 150 min, a fim de comparar os rendimentos e composições obtidos pela EFS-CO<sub>2</sub>.

### 2.3 EFS-CO<sub>2</sub>

Os ensaios de extração foram conduzidos em um aparelho de extração supercrítica em escala laboratorial utilizando CO<sub>2</sub> como solvente. Mais detalhes sobre o aparato experimental e o procedimento foram descritos por Confortin et al. [26]. A Equação 1 foi usada para determinar o rendimento do extrato.

$$\text{Rendimento (\% em massa)} = (\text{massa do extracto (g)})/(\text{massa seca inicial da matriz (g)}) \times 100 \quad (1)$$

Os valores da massa seca inicial de cada matriz sólida colocada no recipiente de extração não foram constantes para as diferentes partes aéreas de *Senecio brasiliensis*. Embora todas as partes aéreas tenham sido submetidas a igual pré-tratamento de moagem, a estrutura e a composição do sólido são diferentes, resultando em diâmetros médios diferentes, isso contribuiu para a formação de um leito com diferentes propriedades. Por esse motivo, para manter a altura do leito, diferentes massas secas iniciais de matriz sólida foram utilizadas para folhas (7,5 g), flores (4 g) e caules (9 g), submetidos a uma vazão de solvente de 4 g/min.

Utilizou-se delineamento experimental com 2 níveis e 2 variáveis (2<sup>2</sup>) e triplicata no ponto central, totalizando sete condições para cada matriz (caules, folhas e flores). As extrações foram realizadas nas temperaturas de 40, 50 e 60°C e pressões de 15, 20 e 25 MPa. Para gerar as curvas cinéticas de extração usando SC-CO<sub>2</sub>, os extratos foram coletados em intervalos iguais de 5 min. As extrações foram realizadas nas temperaturas de 40, 50 e 60°C e pressões de 15, 20 e 25 MPa. A densidade do fluido ( $\rho$ ) foi obtida do Chemistry WebBook - National Institute of Standards and Technology (NIST) [27]. Foi realizada a análise de variância (ANOVA) e aplicado o teste de Tukey para determinar diferenças significativas entre os rendimentos (extrações por 45 min para SC-CO<sub>2</sub>), a um nível de incerteza de 5%, usando Statistica 8.0@ (Statsoft Inc., EUA). O desvio padrão foi baseado nos ensaios em triplicata.

#### 2.4 Modelagem matemática

O modelo de Sovová foi ajustado aos dados experimentais do EFS-CO<sub>2</sub> obtidos neste trabalho. A solução analítica é dada por três equações diferentes e suas variáveis adimensionais (Equações 2-9), cada uma aplicada a um estágio particular do processo [24].

Primeira etapa:

$$t \leq t_{\text{CER}}:$$

$$m_{\text{ext}(t)} = \dot{m}_F \cdot Y_S \cdot t \cdot (1 - \exp(-Z)) \quad (2)$$

Segunda etapa:

$$t_{\text{CER}} < t \leq t_{\text{FER}}:$$

$$m_{\text{ext}(t)} = m_F \cdot Y_S \cdot \left\{ t - t_{\text{CER}} \cdot \left[ \exp\left(\frac{Z \cdot Y_S}{W \cdot X_0}\right) \cdot \ln\left(\frac{1}{1-r} \cdot \left(\exp\left(\frac{W \cdot m_F}{m_S} \cdot (t_{\text{CER}} - t)\right) - r\right)\right) - Z \right] \right\} \quad (3)$$

Terceira etapa:

$t > t_{\text{FER}}$ :

$$m_{\text{ext}(t)} = m_S \cdot \left\{ X_0 - \frac{Y_S}{W} \cdot \ln \left[ 1 + \left( \exp\left(\frac{W \cdot X_0}{Y_S}\right) - 1 \right) \cdot \exp\left(\frac{W \cdot m_F}{m_S}\right) \cdot (t_{\text{CER}} - t) \cdot r \right] \right\} \quad (4)$$

Onde:  $Z$ ,  $W$ , e  $r$  são as variáveis adimensionais definidas pelas Eqs. 5-7.

$$Z = \frac{k_{fa} \cdot m_S \cdot \rho_F}{m_F \cdot \rho_S \cdot (1-\varepsilon)} \quad (5)$$

$$W = \frac{k_{sa} \cdot m_S}{m_F \cdot (1-\varepsilon)} \quad (6)$$

$$r = 1 - \frac{x_k}{X_0} \quad (7)$$

Onde:  $X_0$  é o rendimento global do extrato (g extrato/g matéria-prima) e foi calculado assumindo que o extrato de massa total obtido no final do CEG poderia ser usado como uma estimativa de  $m_0$  (massa total do extrato na matéria prima).

$$X_0 = \frac{m_0}{F} \quad (8)$$

Onde:  $Z$  e  $W$  são, respectivamente, os parâmetros proporcionais à transferência de massa por fase solvente e transferência de massa em fase sólida, e o parâmetro  $r$  é a fração de extração facilmente acessível nas partículas, que depende do grau de desintegração durante o pré-tratamento mecânico [24, 27]. Os parâmetros  $k_{fa}$ ,  $k_{sa}$  e  $r$  foram ajustados usando um algoritmo não linear de mínimos quadrados, minimizando a função objetivo ( $F$ ):

$$F = \sum_{i=1}^N (m_{\text{ext},i}^{\text{calc}} - m_{\text{ext},i}^{\text{exp}})^2 \quad (9)$$

Onde:  $m_{\text{ext}}^{\text{calc}}$  and  $m_{\text{ext}}^{\text{exp}}$  são, respectivamente, a massa do extrato calculada pelo modelo e o valor experimental.

Alguns dados de entrada foram necessários para ajustar os parâmetros do modelo de Sovová, como está apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Dados de entrada usados para ajustar os parâmetros do Modelo de Sovová.

	<b>Folhas</b>	<b>Flores</b>	<b>Caules</b>
Umidade <sup>1</sup> (% mássica)	10	10	10
Tamanho médio de partícula <sup>2</sup> (µm)	1294±50	1070±35	802±20
Densidade sólida <sup>3</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	1,51±0,05 <sup>[21]</sup>	0,25±0,03	0,78±0,01 <sup>[51]</sup>
Densidade do leito <sup>4</sup> (g/cm <sup>3</sup> )*	0,22±0,01	0,11±0,01	0,33±0,02
Porosidade <sup>4</sup> (-)*	0,82	0,45 <sup>[52]</sup>	0,58
X <sub>0</sub> (g extrato/g matéria prima)	0,01100	0,01200	0,00620

<sup>1</sup> O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico a  $105 \pm 3$  ° C por 24 h. <sup>2</sup> Determinado por peneiramento usando uma série de Tyler. <sup>3</sup> Determinado por picnometria gasosa usando hélio. <sup>4</sup> As propriedades do leito foram determinadas de acordo com o procedimento experimental feito por Lima e Ferreira [ 54 ]

## 2.5 Cromatografia gasosa - análise por espectrometria de massa

As amostras foram analisadas em um sistema de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-Q / MS). Maiores detalhes sobre o aparelho e procedimento foram descritos por Confortin et al. [26]. Pequenas modificações foram feitas no programa de temperatura do forno (5°C/min de 50°C a 280°C (15 min)), a temperatura da interface (280°C) e os espectros de massa (registrados acima de 35 a 500 amu em 0,30 scan).

## 2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia das amostras foi observada utilizando um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Tescan, VEGA-3G, República Tcheca), acoplado a um detector de elétrons secundário (SE) para obtenção das imagens. Para esta análise as amostras foram cobertas com Au (processo de metalização por sputtering, usando uma corrente de 20 mA por 90 segundos).

# 3. Resultados e discussão

## 3.1 Rendimento de extração

Os rendimentos das extrações obtidas por Soxhlet e EFS-CO<sub>2</sub> das partes aéreas de *Senecio brasiliensis* são apresentados na Tabela 2. O maior rendimento foi obtido pela extração de Soxhlet, em ordem decrescente para as folhas (2,24% em massa), flores (1,92%) e caules (0,85%).

Quando se utilizou a EFS-CO<sub>2</sub>, os maiores rendimentos foram encontrados para folhas (1,76% em massa) e flores (1,56% em massa). As matrizes folhas e flores apresentaram desempenho de rendimento semelhante, onde os maiores rendimentos foram encontrados no ensaio 4 sob condições de temperatura e pressão mais elevadas (60°C e 25 MPa). As flores apresentaram o maior rendimento na condição de maior densidade do solvente (aproximadamente 887,534 kg/m<sup>3</sup>), com a menor temperatura e a maior pressão (40°C e 25 MPa). Por outro lado, as três matrizes apresentaram os menores rendimentos nas condições de maior temperatura e menor pressão (60°C e 15 MPa), ou seja, com menores densidades do solvente.

De acordo com a análise estatística, o aumento da pressão na mesma temperatura favoreceu a um maior rendimento. A pressão foi significativa no processo, apresentando um efeito positivo nos rendimentos. Esse comportamento também foi evidenciado por Barzotto et al. [19], que descreveu que essa influência positiva pode ser atribuída a um aumento na densidade de solventes. De acordo com Soto-Armenta et al. [23], um dos principais parâmetros que influenciam as extrações é a pressão, pois seu aumento também aumenta a densidade do fluido. Consequentemente, pode melhorar a solubilidade dos solutos no fluido de extração.

Tabela 2. Comparação dos rendimentos de extração obtidos de *Senecio brasiliensis* usando EFS-CO<sub>2</sub> e Soxhlet.

Ensaio	T (°C)	P (MPa)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	Rendimento (mássica %)		
				Folhas	Flores	Caules
<b>EFS-CO<sub>2</sub></b>						
1	(-1) 40	(+1) 15	750,501	0,79 ± 0,02 <sup>dE</sup>	1,29 ± 0,02 <sup>bC</sup>	0,11 ± <0,01 <sup>cD</sup>
2	(-1) 40	(+1) 25	887,534	1,30 ± <0,01 <sup>bC</sup>	1,56 ± 0,02 <sup>aB</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>bC</sup>
3	(+1) 60	(-1) 15	565,509	0,83 ± 0,02 <sup>cD</sup>	0,97 ± <0,01 <sup>dE</sup>	0,10 ± 0,01 <sup>cD</sup>
4	(+1) 60	(+1) 25	776,880	1,76 ± <0,01 <sup>aB</sup>	1,24 ± 0,01 <sup>cD</sup>	0,25 ± <0,01 <sup>aB</sup>
5	(0) 50	(0) 20	765,942	0,91 ± 0,01 <sup>eF</sup>	1,09 ± 0,02 <sup>eF</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>dE</sup>
6	(0) 50	(0) 20	765,942	0,90 ± 0,01 <sup>eF</sup>	1,08 ± 0,02 <sup>eF</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>dE</sup>
7	(0) 50	(0) 20	765,942	0,90 ± 0,01 <sup>eF</sup>	1,08 ± 0,02 <sup>eF</sup>	0,16 ± 0,02 <sup>dE</sup>
<b>Soxhlet</b>						
8	Nd	Nd	Nd	2,24 ± 0,20 <sup>A</sup>	1,92 ± 0,10 <sup>A</sup>	0,85 ± 0,02 <sup>A</sup>

T: temperatura; P: pressão;  $\rho$ : densidade do solvente; Nd: não determinado.

a – e: Letras diferentes na mesma coluna representam uma diferença significativa a 95% ( $p < 0,05$  - teste de Tukey) entre os ensaios apenas para EFS.

A-F: Letras diferentes na mesma coluna representam uma diferença significativa a 95% ( $p < 0,05$  - teste de Tukey) entre os ensaios entre os dois métodos.

Alguns autores também observaram resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho na EFS com outros materiais vegetais. Confortin et al. [26] estudaram os rendimentos de diferentes matrizes de plantas de *Lupinus albus* e obtiveram resultados semelhantes, onde maiores rendimentos foram relatados em maior densidade, mas tanto a temperatura quanto a pressão

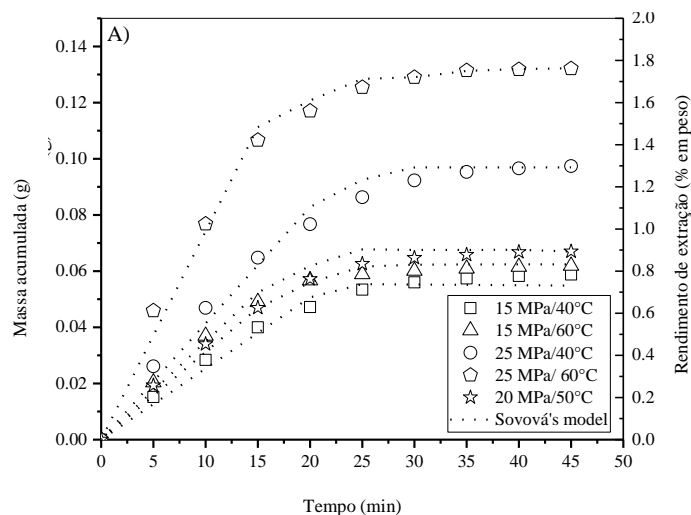


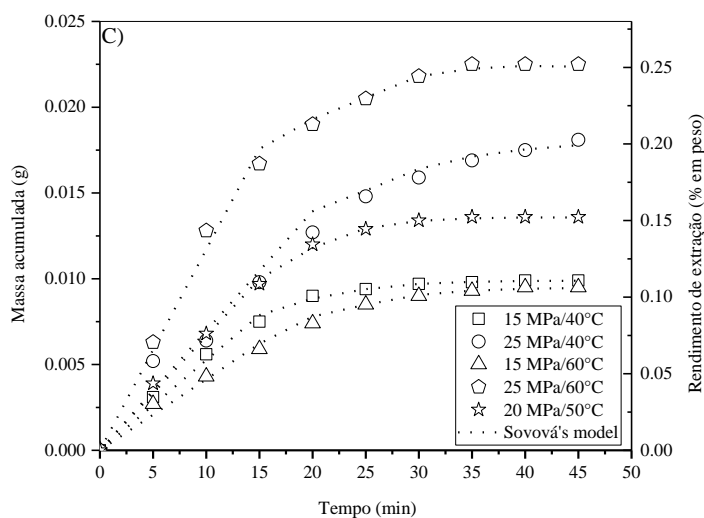
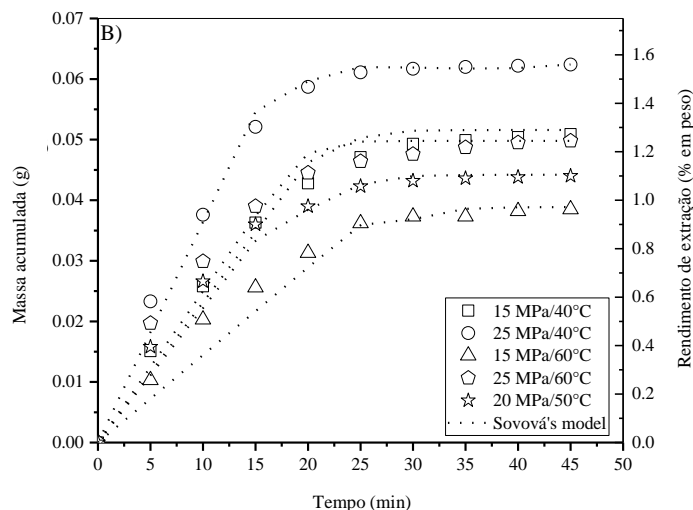
foram significativas nos rendimentos. Frohlich et al. [28] na extração de *Syzygium aromaticum*, avaliaram o rendimento e os rendimentos obtidos que variaram de 0,74 a 1,08% em massa, sendo este último obtido na condição de maior densidade de CO<sub>2</sub>. Para esses autores, a temperatura não influenciou o rendimento, mas a pressão teve efeito significativo e positivo no rendimento da extração. Deve-se ressaltar que os resultados obtidos neste trabalho não foram comparados com as mesmas espécies estudadas, pois não há relatos na literatura, sendo este trabalho pioneiro na extração supercrítica de *Senecio brasiliensis*.

### 3.2 Curvas de extração e modelagem

A Figura 1 mostra as curvas cinéticas de extração total (CEGs) dos extratos de *Senecio brasiliensis* obtidos para três diferentes partes aéreas da planta (folhas (A), flores (B) e caules (C)) e realizadas sob diferentes condições de extração. Os resultados foram expressos em termos de massa cumulativa do extrato em função do tempo de extração e como rendimento (% em peso).

Figura 1. Curvas cinéticas de extração de extratos obtidos de partes aéreas de *Senecio brasiliensis* por EFS-CO<sub>2</sub>: A) Folhas; B) Flores; C) Caules.



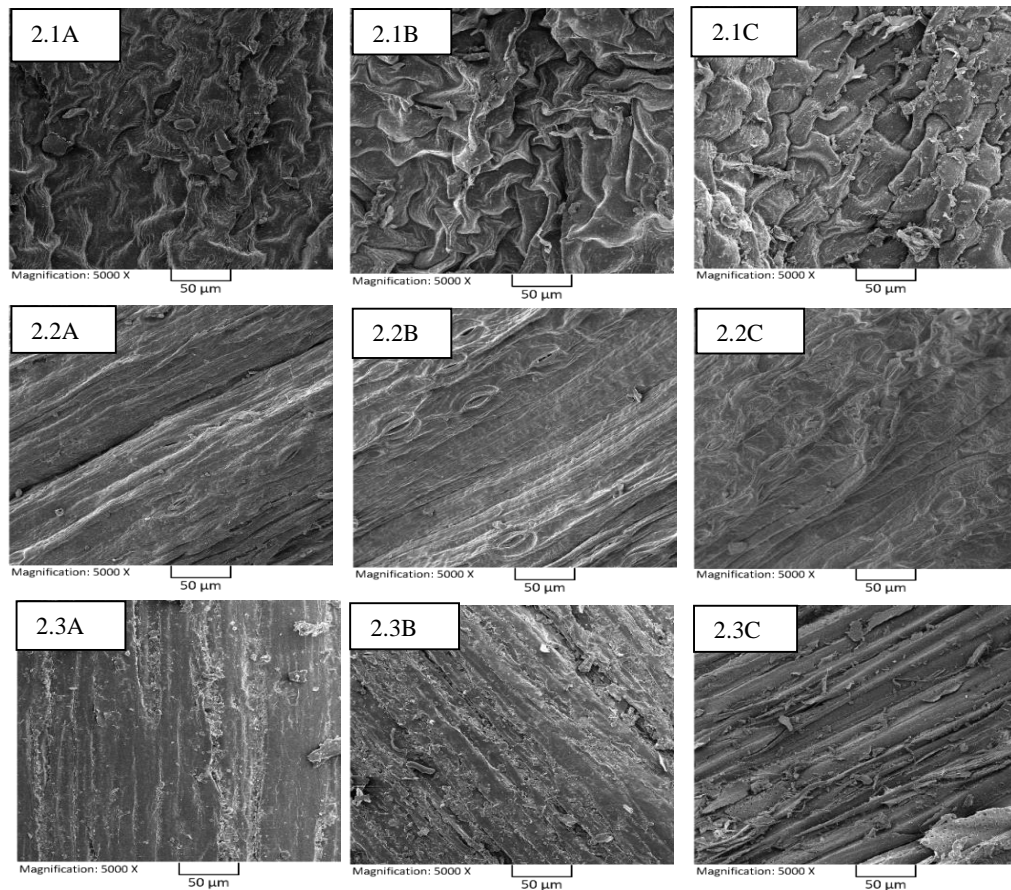


As extrações ocorreram predominantemente nos períodos de taxa de extração constante (CER) e taxa de extração decrescente (FER) para as folhas e flores. Para os caules, a extração a 25 MPa/60°C e 25 MPa/40°C não atingiram o período de difusão controlada aos 30 min das extrações. No entanto, com base em ensaios posteriores, observou-se uma pequena contribuição do tempo nos rendimentos de extração após 45 min. Portanto, as curvas cinéticas de extração foram truncadas neste tempo de extração (45 min).

É importante notar pelas imagens de MEV (Fig. 2), que as partes aéreas de *Senecio brasiliensis* apresentaram diferenças em seus aspectos morfológicos, o que pode estar associado a comportamentos distintos de CEGs encontrados neste trabalho. As diferenças morfológicas podem impactar nos rendimentos de extração. Os caules têm uma superfície menos porosa que as demais matrizes vegetais. Este aspecto pode aumentar a resistência à transferência de massa

interna na extração, mesmo quando os maiores valores de pressão e temperatura utilizados neste trabalho foram selecionados.

Figura 2. MEV imagem das matrizes de *Senecio brasiliensis* antes e depois das extrações: (A) antes da extração (matéria prima fresca); (B) extração por Soxhlet; (C) EFS-CO<sub>2</sub>; (1) Folhas; (2) Flores; (3) Caules.



Para as folhas, a condição de 25 MPa/60°C apresentou o maior rendimento de extração e a maior taxa de transferência de massa entre todos os ensaios de EFS-CO<sub>2</sub> (Fig. 1). A extração máxima de 1,76% em massa e foi obtida no final do período FER (aproximadamente 30 min). O menor desempenho de extração foi a 15 MPa/40°C, onde foi observado um rendimento de extração duas vezes menor que a melhor condição (25 MPa/60°C). Nesta condição de extração (15 MPa/40°C), o período de CER é maior do que o obtido no melhor desempenho de extração, o que sugere que a densidade do solvente não é a principal razão para aumentar os rendimentos de extração. As diferentes condições alteraram as características do solvente e foram

responsáveis pela interação entre o solvente e os solutos. No entanto, os efeitos da pressão de vapor devem ser investigados.

Geralmente, o aumento na densidade de solventes corrobora com o aumento nos rendimentos de extração aumentando o poder de solvência do solvente. No entanto, para as folhas, o melhor desempenho de extração não foi obtido para a condição de extração com maior densidade de solvente, mas nas condições de extração onde maiores valores de pressão e temperatura foram utilizados (25 MPa e 80°C). Embora o aumento na temperatura diminuiu a densidade do CO<sub>2</sub> supercrítico, ocorreu um aumento na pressão de vapor dos solutos com o aumento da temperatura, causando competição entre esses efeitos. O comportamento observado neste trabalho é conhecido como efeito da solubilidade retrógrada ou fenômeno de *crossover*, sendo comum na extração com fluidos supercríticos [30]. No estudo realizado por Soares et al. [22], a pressão de vapor supera o poder de solvatação na extração com fluido supercrítico de compostos de sementes de *Populus nigra* usando CO<sub>2</sub> como solvente.

Nas extrações realizadas com flores (Fig. 1B), foi observado um padrão diferente de rendimento, atingindo um rendimento de extração variando de 0,97 a 1,56% em peso. O melhor desempenho foi obtido a 25 MPa /40°C e obteve-se rendimento de extração de 1,56% em massa ao final do período FER. No final do período de CER, aproximadamente 90% do rendimento total de extração foi alcançado para todas as condições de extração, o que é uma alta proporção. Este resultado mostra que o poder de solvatação do solvente é o principal fator associado à transferência de massa na extração de SC-CO<sub>2</sub> das flores. A condição menos favorável foi a de 15 MPa/60°C, corroborando com as premissas feitas sobre o poder de solvatação do solvente. Nesta condição, o solvente possui uma densidade menor entre todas as condições investigadas neste trabalho.

Os caules apresentaram os menores rendimentos de extração entre todos os ensaios realizadas neste trabalho, variando de 0,10% em massa a 15 MPa/60°C a 0,25% em massa a 25MPa/60°C. Para esta parte do *Senecio brasiliensis*, pressões maiores que 17 MPa, a pressão de vapor supera os rendimentos de extração, enquanto para pressões menores que 17 MPa a densidade do solvente controlou os rendimentos da extração. Isso é conhecido como comportamento *crossover*, onde se estabelece uma competição pelo aumento da temperatura na diminuição da densidade e no aumento da pressão de vapor do soluto [30].

Em relação à modelagem matemática, a Tabela 3 apresenta os parâmetros cinéticos ajustados pelo modelo de Sovová e os coeficientes de transferência de massa ( $k_{fa}$  e  $k_{sa}$ ), que foram obtidos das Eq.s (2), (3) e(4). Para todas as partes aéreas de *Senecio brasiliensis*, os valores de  $k_{fa}$  (0,25-0,65 min<sup>-1</sup>) foram aproximadamente uma ordem de magnitude superiores

do que  $k_{sa}$  ( $0,03-0,09 \text{ min}^{-1}$ ). Este é um resultado consistente porque espera-se que a resistência à transferência de massa na fase fluida seja alta, uma vez que as células foram parcialmente rompidas por moagem mecânica e os solutos eram facilmente acessíveis no início da extração. As diferenças nos valores de  $k_{fa}$  e  $k_{sa}$  obtidos para as partes aéreas de *Senecio brasiliensis* foram semelhantes às encontradas por Canabarro, Mazutti e Ferreira [21] na extração de óleo de folhas de oliveira. Esses autores também obtiveram valores de  $k_{fa}$  com uma magnitude de ordem superior que o  $k_{sa}$ . Para folhas de oliveira secas a  $50^\circ\text{C}$  e extraídas a  $40^\circ\text{C}$  e  $25\text{MPa}$ , o  $k_{fa}$  e  $k_{sa}$  foram  $0,187 \text{ min}^{-1}$  e  $0,022 \text{ min}^{-1}$ , respectivamente. Na secagem a  $70^\circ\text{C}$  e extração nas mesmas condições de pressão e temperatura,  $k_{fa}$  e  $k_{sa}$  foram ligeiramente menores,  $0,152 \text{ min}^{-1}$  e  $0,018 \text{ min}^{-1}$ , respectivamente. Em outro estudo onde o óleo foi extraído de sementes de *Populus nigra* [22] a  $40^\circ\text{C}$  e  $25 \text{ MPa}$ , o  $k_{fa}$  e  $k_{sa}$  foram de  $0,073 \text{ min}^{-1}$  e  $0,009 \text{ min}^{-1}$ , respectivamente, indicando valores aproximadamente 10 vezes inferiores aos apresentados nesse trabalho.

Tabela 3. EFS- $\text{CO}_2$  de *Senecio brasiliensis*: parâmetros ajustados usando o modelo de Sovová.

<b>Folhas</b>					
Ensaio	1	2	3	4	5/6/7
$k_{fa}$ (1/min)	0,44	0,33	0,25	0,34	0,65
$k_{sa}$ (1/min)	0,05	0,03	0,08	0,08	0,05
$x_k$	0,007	0,006	0,007	0,005	0,002
$r$ (-)	0,36	0,38	0,33	0,37	0,39
$Y^*$ (g extrato/g $\text{CO}_2$ )	0,0007	0,0012	0,0012	0,0022	0,0009
$R^2$ (-)	0,97	0,98	0,98	0,97	0,98
RMSE (-)	0,045	0,012	0,020	0,003	0,038
<b>Flores</b>					
Ensaio	1	2	3	4	5/6/7
$k_{fa}$ (1/min)	0,43	0,53	0,29	0,37	0,30
$k_{sa}$ (1/min)	0,12	0,20	0,14	0,15	0,18
$x_k$	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
$r$ (-)	0,26	0,26	0,28	0,35	0,32
$Y^*$ (g extrato/g $\text{CO}_2$ )	0,0007	0,0010	0,0006	0,0008	0,0008
$R^2$ (-)	0,98	0,99	0,96	0,96	0,97
RMSE (-)	0,019	0,0150	0,031	0,016	0,026
<b>Caules</b>					
Ensaio	1	2	3	4	5/6/7
$k_{fa}$ (1/min)	0,29	0,48	0,25	0,35	0,28
$k_{sa}$ (1/min)	0,20	0,16	0,15	0,27	0,18
$x_k$	0,004	0,005	0,003	0,004	0,003
$r$ (-)	0,30	0,21	0,25	0,28	0,22
$Y^*$ (g extrato/g $\text{CO}_2$ )	0,0002	0,0002	0,0002	0,0004	0,0002
$R^2$ (-)	0,99	0,96	0,99	0,99	0,99
RMSE (-)	0,007	0,028	0,004	0,010	0,008

$k_{fa}$ : coeficiente de transferência de massa para fase de fluido;  $k_{sa}$ : coeficiente de transferência de massa para fase sólida;  $r$ : fração de células quebradas;  $R^2$ : coeficiente de determinação; RMSE: raiz quadrada média do erro.

No modelo de Sovová, a fração de extrato facilmente acessível é dada pelo parâmetro  $r$ . É afetado por pré-tratamentos como secagem, moagem e peneiramento [31, 32]. Os valores de  $r$  no presente estudo permaneceram na faixa de 0,53 a 0,68. Embora as matrizes utilizadas nas diferentes extrações tenham sido submetidas a operações de pré-tratamento idênticas, a morfologia desses materiais era diferente (Fig.2). Os valores de  $r$  obtidos por Canabarro, Mazutti e Ferreira [21] foram superiores aos valores obtidos neste trabalho. Este comportamento pode ser atribuído aos diferentes pré-tratamentos a que a matriz vegetal foi submetida. Nesse caso, a secagem das folhas de oliveira foi feita em secador semi-industrial de esteira rolante, enquanto neste trabalho as partes aéreas de *Senecio brasiliensis* foram secas em estufa sem convecção forçada.

A comparação entre os dados simulados e experimentais na Figura 1 apresenta boa concordância para todos os ensaios de extrações, apresentando valores elevados de coeficientes de correlação ( $R^2 \geq 0,96$ ) e baixos valores de erro quadrático médio (RMSE). A interação entre a solubilidade dos solutos e os mecanismos de transferência de massa é bastante complexa e depende fortemente da pressão e da temperatura, levando a extratos com diferentes composições, dependendo da combinação da pressão de extração e da temperatura. A Tabela 4 apresenta estas diferenças de composição, onde pode ser observada a concentração dos principais compostos encontrados nos extratos obtidos em diferentes condições.

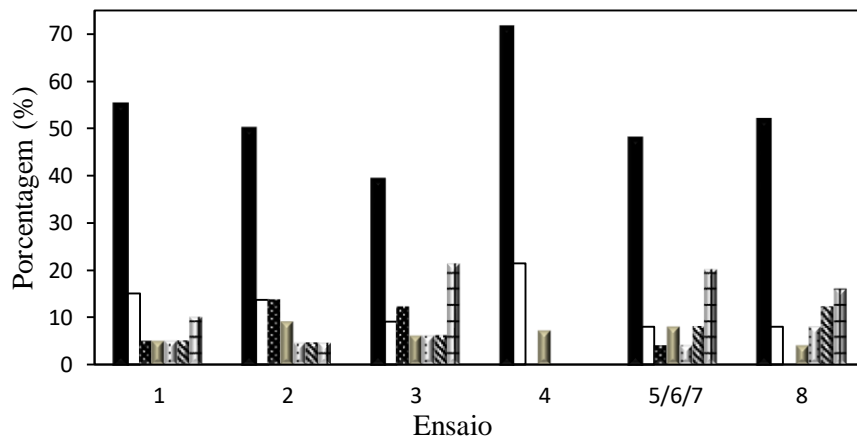
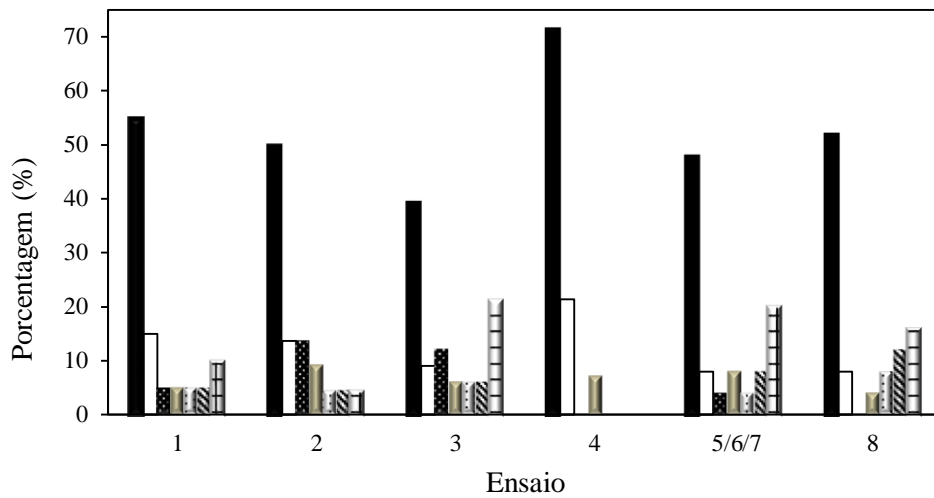
### 3.3 Composição química dos extratos

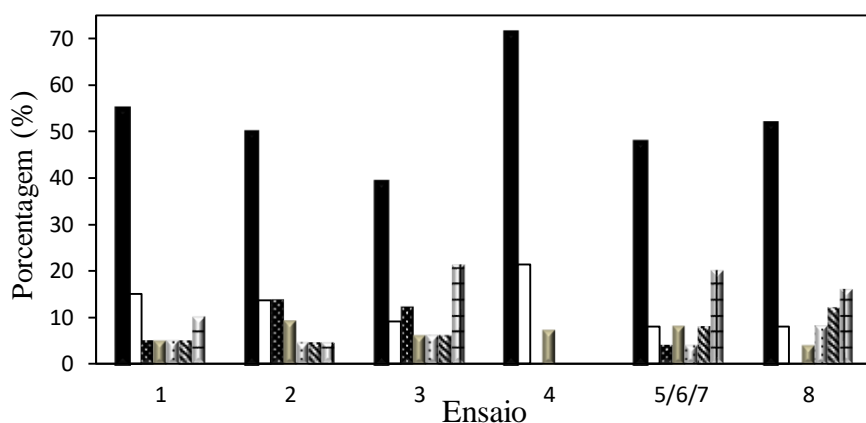
Os estudos relatados na literatura sobre os compostos de *Senecio brasiliensis* estão praticamente concentrados na identificação de alcalóides pirrolizidínicos como a integerrimina e a senecionina [9, 33, 34, 35], o que corrobora os resultados obtidos neste trabalho, onde esses compostos estão presentes em altas proporções. No entanto, os extratos obtidos neste estudo também apresentaram outros compostos (Tabela 4). A maioria dos compostos, como elemeno, alfa-humuleno, cariofileno, germacreno-D, espatulenol, neofitadieno, fitol e esqualeno são conhecidos por serem biologicamente ativos, sendo responsáveis por várias atividades [36], [37], [38], [39], [40], [41], [42], [43].

A identificação cromatográfica revelou altos níveis de sesquiterpenos seguidos de alcalóides pirrolizidínicos (Fig. 3), apresentando-se como principais compostos para as flores e folhas: integerrimina, elemeno, alfa-humuleno, cariofileno e germacreno-D. Além disso, outros compostos foram identificados, como espatulenol, neofitadieno, fitol e esqualeno. A integerrimina, um dos principais compostos, alcaloide da pirrolizidina, foi relatada como um

composto tóxico [9]. Houve diferença de composição entre as partes estudadas, mas as flores e folhas apresentaram semelhanças, e os caules apresentaram espatulenol como composto majoritário em todas as condições.

Figura 3. Principais classes de compostos de *Senecio brasiliensis*. Terpenóides (■); Alcalóides (□); Ácidos Graxos (▨); Álcool (▩); Aldeídos (▪); Alcanos acíclicos (▧); Outras classes (▣).





Os compostos identificados neste trabalho são relatados na literatura científica com altas bioatividades. O composto  $\beta$ -elemeno é relatado como tendo propriedades antiinflamatórias e antitumorais [36, 37] e elucidado com atividades semelhantes à quimioterapia [44]. O alfa-humuleno foi descrito com propriedades antiinflamatórias [38], também sendo relatado como um larvicida, que é tóxico contra larvas de *Anopheles*, *Aedes* e *Culex* [45]. Alfa-humuleno também foi relatado como um inseticida, exibindo atividade contra *Helicoverpa armigera* [46]. O  $\beta$ -cariofileno, um importante canabinoide derivado de óleos essenciais de diferentes espécies [39], é descrito com propriedades antiinflamatórias e atividade antimicrobiana [47, 48]. O  $\beta$ -cariofileno também desempenha um papel importante na atração de polinizadores [49, 50]. Germacrene-D é um precursor biogenético de muitas outras estruturas sesquiterpênicas [40]. O espatulenol apresenta atividade antioxidante, antiinflamatória, antiproliferativa, antimicobacteriana [41] e antifúngica [51]. O uso combinado de neofitadieno e fitol apresenta atividade inseticida [42], enquanto o esqualeno é altamente relatado com aplicações medicinais, terapêuticas e cosméticas [43].

Na comparação entre rendimento e compostos, a condição com maior rendimento foi a mesma que apresentou maior porcentagem de área nos compostos majoritários. Esses achados indicam que a EFS-CO<sub>2</sub> foi seletiva para extrair a maior quantidade de compostos (Tabela 4) em uma quantidade maior de extrato. Ao comparar as técnicas utilizadas em relação aos compostos identificados, a EFS-CO<sub>2</sub> extraiu mais compostos do que o método de extração Soxhlet convencional. Embora o Soxhlet possa proporcionar rendimentos totais maiores, o extrato pode conter maiores quantidades de compostos indesejáveis como ceras, interferindo na identificação e separação de compostos bioativos.

Para representar como as técnicas de extração podem causar algumas alterações estruturais nas plantas, a superfície das partículas das matrizes de *Senecio brasiliensis* foram observadas por MEV. A superfície dos tecidos da matriz mostrou integridade antes da extração,



mas foi ligeiramente danificada após a extração. A aplicação das duas técnicas utilizadas neste trabalho provoca alterações na superfície dos tecidos (Fig. 2). De maneira geral, o SC-CO<sub>2</sub> apresentou danos nas células na forma de trincas e descamação, muito superiores aos danos causados pelo Soxhlet, o que pode explicar a extração de um maior número de compostos pelo SC-CO<sub>2</sub>.

#### 4. Conclusão

Este trabalho apresenta dados de rendimento, modelagem matemática e composição química de extratos obtidos de flores, folhas e caules de *Senecio brasiliensis* por EFS-CO<sub>2</sub> e Soxhlet. Os maiores rendimentos de extração foram obtidos para folhas (1,76% em massa; 60°C/25 MPa), flores (1,56% em massa; 40°C/25 MPa) e caules (0,25% em massa; 60°C/25 MPa). As comparações entre os dados simulados e experimentais foram adequadas, onde foram encontrados altos valores dos coeficientes de correlação e baixos valores do erro quadrático médio. De fato, a descrição das curvas cinéticas pelo modelo de Sovová foi satisfatória. *Senecio brasiliensis* apresentou vários compostos bioativos, sendo a classe dos sesquiterpenos a mais representativa. Os principais compostos identificados nos extratos foram integerrimina, elemeno, alfa-humuleno, cariofileno e germacreno-D. O SC-CO<sub>2</sub> demonstrou ser uma tecnologia eficiente para a extração de compostos bioativos desta planta pouco investigada, mas promissora (*Senecio brasiliensis*), o que pode estimular novos estudos em áreas relacionadas à biologia.



Tabela 4. Compostos químicos obtidos por EFS-CO<sub>2</sub> e Soxhlet de diferentes matrizes de *Senecio brasiliensis*.

Ensaio	Área Relativa (%)																	
	Folhas						Flores						Caulos					
	EFS-CO <sub>2</sub>			Sox			EFS-CO <sub>2</sub>			Sox			EFS-CO <sub>2</sub>			Sox		
	1	2	3	4	5/6/7	8	1	2	3	4	5/6/7	8	1	2	3	4	5/6/7	8
<b>Compostos</b>																		
Cyclohexane	0,58	-	0,62	-		2,15	1,23	1,12	1,10	-	3,76	3,00	-	-	-	-	-	-
Beta. Elemene	2,56	2,96	1,96	3,02	1,98	0,89	2,98	1,85	2,56	2,10	2,01	0,97	-	-	-	-	-	-
Elemene isomer	11,25	12,59	9,52	12,89	9,86	5,52	9,52	10,85	9,13	10,29	9,75	5,12	-	-	-	-	-	-
Alpha.-humulene	10,56	11,02	7,56	12,01	8,05	6,52	10,98	10,24	9,98	10,89	10,56	6,85	5,25	5,10	5,36	6,02	5,96	4,52
Caryophyllene	9,56	10,05	8,86	10,56	8,52	5,52	19,68	22,22	19,58	23,52	17,87	11,54	-	-	-	-	-	-
Germacrene-D	11,52	12,60	9,12	12,85	9,03	2,52	11,87	11,96	10,32	11,99	11,52	8,52	6,52	6,23	6,20	7,01	6,96	5,90
Bicyclogermacrene	2,58	1,56	0,85	1,02	0,98	0,52	3,58	3,10	3,10	3,21	3,05	-	-	-	-	-	-	-
Tetramethylbicyclo	-	0,85	0,25	-		3,20	2,56	2,14	2,36	2,36	2,33	-	-	-	-	-	-	-
1,7-dimethylcyclodeca - 2,7-dienol	-	-	1,52	-	1,02	-	1,23	1,02	1,90	1,96	1,85	-	-	-	-	-	-	-
Spathulenol	5,56	6,58	5,26	6,96	5,13	2,52	4,23	4,69	4,56	4,52	4,98	3,26	32,52	26,67	26,96	38,56	29,58	19,10
Cycloheptane	-	-	2,21	-	1,10	3,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neophytadiene	5,58	4,42	1,53	5,86	3,52	1,20	3,25	2,15	3,12	3,90	3,25	-	-	-	-	-	-	-
Hexadecen-1-ol	-	-	1,10	-	2,10	-	2,10	1,98	1,65	1,75	1,63	-	-	-	-	-	-	-
Phytol	6,86	6,23	4,56	6,85	4,96	1,20	3,54	2,89	2,53	2,96	2,84	-	-	-	-	-	-	-
N-isobutyltetradeca	-	-	0,89	-		2,20	0,98	1,15	1,95	1,98	1,67	-	-	-	-	-	-	-
Octacosyl	-	-	0,96	-	0,87	0,98	1,10	1,05	1,63	1,23	1,58	-	-	-	-	-	-	-
pentafluoropropionate																		
Squalene	6,96	5,25	4,21	5,02	5,02	1,52	3,25	3,56	2,25	3,89	3,67	1,10	-	-	-	-	-	-
Isospathulenol	3,56	3,59	3,56	1,98	4,15	0,95	2,25	1,39	2,45	3,01	2,56	0,86	-	-	-	-	-	-
Eicosanal	-	-	0,96	-	0,87	1,10	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Senecionine	5,23	5,10	5,25	5,96	4,10	1,23	3,25	2,69	2,41	3,56	2,56	-	-	-	-	-	-	-
Docasanal	1,20	1,12	1,58	-	-	1,52	-	-	2,32	-	-	2,15	-	-	-	-	-	-
Integerrimine	11,25	10,56	9,56	3,02	8,45	6,25	5,45	6,63	5,86	5,98	5,25	3,52	-	-	-	-	-	-
1-hexacosanol	-		1,12	-	0,89	-	-	-	1,80	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vitamin E	0,52	-	1,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carboxylic acid, ethyl ester	-	-	0,86	-	0,65	-	2,10	1,12	1,56	0,90	2,24	1,10	-	-	-	-	-	-
Phenyl	1,52	1,59	1,10	-	1,32	-	1,52	1,63	1,23	-	1,20	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 4. (continuação).

Ensaio	Área Relativa (%)																	
	Folhas						Flores						Caulos					
	EFS-CO <sub>2</sub>			Sox			EFS-CO <sub>2</sub>			Sox			EFS-CO <sub>2</sub>			Sox		
	1	2	3	4	5/6/7	8	1	2	3	4	5/6/7	8	1	2	3	4	5/6/7	8
<b>Compostos</b>																		
5-formyl-3-methyl-1H-pyrrole-2,4-dicarboxylic acid	1,52	1,52	1,12	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-bromocholest-4-en-3-one	-	1,56	1,86	-	-	-	2,10	1,96	1,58	-	1,52	-	-	-	-	-	-	-
octadecenoic acid	-	0,52	0,86	-	-	-	-	1,25	1,02	-	1,25	-	-	-	-	-	-	-
3,5,9-trioxa-4-phosphaheptacosan-1-aminium	-	-	0,96	-	1,12	-	-	-	-	-	-	-	2,56	2,63	2,14	3,25	-	-
9,12-octadecadienoic acid	0,63	-	0,59	-	0,89	-	-	-	-	-	-	-	3,52	2,58	2,52	3,86	-	3,25
Methyl stearate	-	0,10	0,86	-	-	-	1,25	1,36	1,05	-	1,10	-	-	-	-	-	-	-
Tricosane	1,00	-	3,20	-	10,42	19,95	-	-	-	-	-	10,52	25,12	9,58	10,56	10,32	10,98	9,53
Pentacosane	-	0,23	4,46	-	5,00	10,56	-	-	-	-	-	21,49	24,51	10,55	9,58	9,23	9,52	10,52
Dotriacontane	-	-	-	-	-	18,42	-	-	-	-	-	20,0	-	22,52	36,41	21,75	37,0	47,18

Sox: Soxhlet

## REFERÊNCIAS

- [1] D. Romo-Asunción, M.A. Ávila-Calderón, M.A. Ramos-López, J.E. Barranco-Florido, S. Rodríguez-Navarro, S. Romero-Gomez, E.J. Aldeco-Pérez, J.R. Pacheco-Aguilar, M.A. Rico-Rodríguez, Juvenomimetic and Insecticidal Activities of *Senecio salignus* (Asteraceae) and *Salvia microphylla* (Lamiaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), *Florida Entomol.* 99 (2016) 345–351.
- [2] G. Zhao, Z. Cao, W. Zhang, H. Zhao, The sesquiterpenoids and their chemotaxonomic implications in *Senecio* L. (Asteraceae), *Biochem. Syst. Ecol.* 59 (2015) 340–347.
- [3] A. Romo de Vivar, A.-L. Pérez-Castorena, A. Arciniegas, J.L. Villaseñor, Secondary Metabolites from Mexican Species of the Tribe Senecioneae (Asteraceae), *J. Mex. Chem.* 51 (2007) 160–172.
- [4] C.P. ére. González, R.S. erran. Vega, M. González-Chávez, M.A. nge. Z. Sánchez, S.P. ére. Gutiérrez, Anti-inflammatory activity and composition of *Senecio salignus* Kunth, *Biomed. Res. Int.* 2013 (2013) 814693.
- [5] M. Manubolu, L. Goodla, S. Ravilla, V.R. Obulum, Activity-guided isolation and identification of anti-staphylococcal components from *Senecio tenuifolius* Burm. F. leaf extracts, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 3 (2013) 191–195.
- [6] D. Wang, L. Huang, S. Chen, *Senecio scandens* Buch.-Ham.: A review on its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and toxicity, *J. Ethnopharmacol.* 149 (2013) 1–23.
- [7] F.C. Karam, A.L. Schild, J.R.B. de Mello, Intoxicação por *Senecio* spp. em bovinos no Rio Grande do Sul: Condições ambientais favoráveis e medidas de controle, *Pesqui. Vet. Bras.* 31 (2011) 603–609.
- [8] G.E. Macedo, K.K. Gomes, N.R. Rodrigues, I.K. Martins, G. da L. Wallau, N.R. de Carvalho, L.C. da Cruz, D.G. da Costa Silva, A.A. Boligon, J.L. Franco, T. Posser, *Senecio brasiliensis* impairs eclosion rate and induces apoptotic cell death in larvae of *Drosophila melanogaster*, *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* 198 (2017) 45–57.
- [9] F. Elias, A.O. Latorre, F. Pípole, M. Haraguchi, S.L. Górnaiak, I.M. Hueza, Haematological and immunological effects of repeated dose exposure of rats to integerrimine N-oxide from *Senecio brasiliensis*, *Food Chem. Toxicol.* 49 (2011) 2313–2319.

- [10] W. Panziera, S.P. Pavarini, L. Sonne, C.S.L. Barros, D. Driemeier, Poisoning of cattle by *Senecio* spp. In Brazil: A review, *Pesqui. Vet. Bras.* 38 (2018) 1459–1470.
- [11] G.S. Vendruscolo, L.A. Mentz, Ethnobotanical survey of the medicinal plants used by the community of Ponta Grossa neighborhood, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, *Iheringia - Ser. Bot.* 61 (2006) 83–103.
- [12] K. Jamwal, S. Bhattacharya, S. Puri, Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants, *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* 9 (2018) 26–38.
- [13] C. Goltz, S. Ávila, J.B. Barbieri, L. Igarashi-Mafra, M.R. Mafra, Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Macela (*Achyrocline satureioides*) extracts, *Ind. Crops Prod.* 115 (2018) 227–234.
- [14] J.G. Gujar, S.J. Wagh, V.G. Gaikar, Experimental and modeling studies on microwave-assisted extraction of thymol from seeds of *Trachyspermum ammi* (TA), *Sep. Purif. Technol.* 70 (2010) 257–264.
- [15] X.F. Chi, H.L. Yue, X.H. Zhao, F.Z. Hu, Obtaining alantolactone and isoalantolactone from *Inula racemose* Hook.f. by optimized supercritical fluid extraction, *Ind. Crops Prod.* 79 (2016) 63–69.
- [16] D.M. Patil, K.G. Akamanchi, Ultrasound-assisted rapid extraction and kinetic modelling of influential factors: Extraction of camptothecin from *Nothapodytes nimmoniana* plant, *Ultrason. Sonochem.* 37 (2017) 582–591.
- [17] R.N. Lima, A.S. Ribeiro, L. Cardozo-Filho, D. Vedoy, P.B. Alves, Extraction from Leaves of *Piper klotzschianum* using Supercritical Carbon Dioxide and Co-Solvents, *J. Supercrit. Fluids.* 147 (2019) 205–212.
- [18] S. Pimentel-moral, I. Borrás-linares, J. Lozano-sánchez, Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive compounds from *Hibiscus sabdariffa*, *J. Supercrit. Fluids.* 147 (2019) 213–221.
- [19] I.L.M. Barzotto, K.A. Santos, E.A. da Silva, A.C. Sene, N.S. da Silva, L. Vieira, Supercritical extraction of *Eugenia involucrata* leaves: Influence of operating conditions on yield and A-tocopherol content, *J. Supercrit. Fluids.* 143 (2019) 55–63.
- [20] A. Natolino, C. Da Porto, Supercritical carbon dioxide extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil: kinetic modelling and solubility evaluation, *J. Supercrit. Fluids.* (2019).

- [21] N.I. Canabarro, M.A. Mazutti, M. do Carmo Ferreira, Drying of olive (*Olea europaea* L.) leaves on a conveyor belt for supercritical extraction of bioactive compounds: Mathematical modeling of drying/extraction operations and analysis of extracts, *Ind. Crops Prod.* 136 (2019) 140–151.
- [22] J.F. Soares, G.L. Zabet, M. V. Tres, F.C. Lunelli, V.M. Rodrigues, M.T. Friedrich, C.A. Pazinato, D. Bilibio, M.A. Mazutti, N. Carniel, W.L. Priamo, Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of black poplar (*Populus nigra* L.) extract: Experimental data and fitting of kinetic parameters, *J. Supercrit. Fluids.* 117 (2016) 270–278.
- [23] L.C. Soto-Armenta, J.C. Sacramento-Rivero, C.A. Ruiz-Mercado, M.C. Lope-Navarrete, J.A. Rocha-Uribe, Extraction yield and kinetic study of *Lippia graveolens* with supercritical CO<sub>2</sub>, *J. Supercrit. Fluids.* 145 (2019) 205–210.
- [24] H. Sovova, Rate of Vegetable Oil Extraction With Supercritical CO<sub>2</sub> - I. Modeling Of Extraction Curves, *Chem. Eng. Sci.* 49 (1994) 409–414.
- [25] T.C. Confortin, I. Todero, J.S. Ferreira, T. Brun, L. Luft, G.A. Ugalde, V.D. Prá, M.A. Mazutti, G.L. Zabet, M. V. Tres, Extraction and composition of extracts obtained from *Lupinus albus* using supercritical carbon dioxide and compressed liquefied petroleum gas, *J. Supercrit. Fluids.* 128 (2017) 395-403.
- [26] T.C. Confortin, I. Todero, L. Luft, G.A. Ugalde, M.A. Mazutti, Z.B. Oliveira, E.L. Bottega, A.E. Knies, G.L. Zabet, M. V. Tres, Oil yields, protein contents, and cost of manufacturing of oil obtained from different hybrids and sowing dates of canola, *J. Environ. Chem. Eng.* 7 (2019) 102972.
- [27] NIST - Chemistry WebBook (2019) Access on May 5<sup>th</sup> <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
- [28] J. Martínez, J.M. Martínez, Fitting the Sovová's supercritical fluid extraction model by means of a global optimization tool, *Comput. Chem. Eng.* 32 (2008) 1735–1745.
- [29] P.C. Frohlich, K.A. Santos, F. Palú, L. Cardozo-Filho, C. da Silva, E.A. da Silva, Evaluation of the effects of temperature and pressure on the extraction of eugenol from clove (*Syzygium aromaticum*) leaves using supercritical CO<sub>2</sub>, *J. Supercrit. Fluids.* 143 (2019) 313–320.
- [30] M. Mukhopadhyay, *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*, 2000.

- [31] L. Casas, C. Mantell, M. Rodriguez, M. Gordillo, A. Torres, F. Macias, E. Martinez de la Ossa, Effect of the pre-treatment of the samples on the natural substances extraction from *Helianthus annuus* L. using supercritical carbon dioxide, *Talanta*. 67 (2005) 175–181.
- [32] P. Santos, A.C. Aguiar, G.F. Barbero, C.A. Rezende, J. Martínez, Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper ( *Capsicum frutescens* L . ) assisted by ultrasound, *Ultrason. Sonochem.* 22 (2015) 78-88.
- [33] W. Toma, J.R. Trigo, A.C. Bensuaski de Paula, A.R. Monteiro Souza Brito, Modulation of gastrin and epidermal growth factor by pyrrolizidine alkaloids obtained from *Senecio brasiliensis* in acute and chronic induced gastric ulcers, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 82 (2004) 319–325.
- [34] J.R. Trigo, I.R. Leal, N.I. Matzenbacher, T.M. Lewinsohn, Chemotaxonomic value of pyrrolizidine alkaloids in southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae), *Biochem. Syst. Ecol.* 31 (2003) 1011–1022.
- [35] R.R. De Souza, L.C. Bretanha, E.M. Dalmarco, M.G. Pizzolatti, T.S. Fröde, Modulatory effect of *Senecio brasiliensis* (Spreng) Less. in a murine model of inflammation induced by carrageenan into the pleural cavity, *J. Ethnopharmacol.* 168 (2015) 373–379.
- [36] B. Zhai, N. Zhang, X. Han, Q. Li, M. Zhang, X. Chen, G. Li, R. Zhang, P. Chen, W. Wang, C. Li, Y. Xiang, S. Liu, T. Duan, J. Lou, T. Xie, X. Sui, Molecular targets of  $\beta$ -elemene, a herbal extract used in traditional Chinese medicine, and its potential role in cancer therapy: A review, *Biomed. Pharmacother.* 114 (2019) 108812.
- [37] A. Shamsizadeh, A. Roohbakhsh, F. Ayoobi, A. Moghaddamahmadi, *The Role of Natural Products in the Prevention and Treatment of Multiple Sclerosis*, Elsevier Inc., 2017.
- [38] E.S. Fernandes, G.F. Passos, R. Medeiros, F.M. da Cunha, J. Ferreira, M.M. Campos, L.F. Pianowski, J.B. Calixto, Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*, *Eur. J. Pharmacol.* 569 (2007) 228–236.
- [39] G. Wang, W. Ma, J. Du,  $\beta$ -Caryophyllene (BCP) ameliorates MPP<sup>+</sup> induced cytotoxicity, *Biomed. Pharmacother.* 103 (2018) 1086–1091.
- [40] N. Bülow, W.A. König, The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis, *Phytochemistry*. 55 (2000) 141–168.



- [41] K.F. do Nascimento, F.M.F. Moreira, J. Alencar Santos, C.A.L. Kassuya, J.H.R. Croda, C.A.L. Cardoso, M. do C. Vieira, A.L.T. Góis Ruiz, M. Ann Foglio, J.E. de Carvalho, A.S.N. Formagio, Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol, *J. Ethnopharmacol.* 210 (2018) 351–358.
- [42] L.A. Cáceres, B.D. McGarvey, C. Briens, F. Berruti, K.K.C. Yeung, I.M. Scott, Insecticidal properties of pyrolysis bio-oil from greenhouse tomato residue biomass, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 112 (2015) 333–340.
- [43] S.M. Budge, C. Barry, Determination of squalene in edible oils by transmethylation and GC analysis, *MethodsX.* 6 (2019) 15–21.
- [44] T. Hu, Y. Gao,  $\beta$ -elemene against Burkitt's lymphoma via activation of PUMA mediated apoptotic pathway, *Biomed. Pharmacother.* 106 (2018) 1557–1562.
- [45] M. Govindarajan, G. Benelli,  $\alpha$ -Humulene and  $\beta$ -elemene from *Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) essential oil: highly effective and eco-friendly larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae), *Parasitol. Res.* 115 (2016) 2771–2778.
- [46] G. Benelli, M. Govindarajan, M. Rajeswary, B. Vaseeharan, S.A. Alyahya, N.S. Alharbi, S. Kadaikunnan, J.M. Khaled, F. Maggi, Insecticidal activity of camphene, zerumbone and  $\alpha$ -humulene from *Cheilocostus speciosus* rhizome essential oil against the Old-World bollworm, *Helicoverpa armigera*, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 148 (2018) 781–786.
- [47] H.J. Yoo, S.K. Jwa, Efficacy of  $\beta$ -caryophyllene for periodontal disease related factors, *Arch. Oral Biol.* 100 (2019) 113–118.
- [48] M.V. da S. Gomes, J.D. da Silva, A.F. Ribeiro, L.M. Cabral, V.P. de Sousa, Development and validation of a quantification method for  $\alpha$ -humulene and trans-caryophyllene in *Cordia verbenacea* by high performance liquid chromatography, *Brazilian J. Pharmacogn.* (2019) 1–9.
- [49] M. Hori, M. Namatame, Host plant volatiles responsible for the invasion of *Stenotus rubrovittatus* (Heteroptera: Miridae) into paddy fields, *J. Appl. Entomol.* 137 (2013) 340–346.
- [50] F.P. Zhang, Q.Y. Yang, G. Wang, S.B. Zhang, Multiple functions of volatiles in flowers

- and leaves of *Elsholtzia rugulosa* (Lamiaceae) from southwestern China, *Sci. Rep.* 6 (2016) 1–6.
- [51] A. Houicher, M. Hamdi, H. Hechachna, F. Özogul, Chemical composition and antifungal activity of *Anacyclus valentinus* essential oil from Algeria, *Food Biosci.* 25 (2018) 28–31.
- [52] H. Faggion, L. Tussolini, F.B. Freire, J.T. Freire, E.F. Zanoelo, Mechanisms of Heat and Mass Transfer during Drying of Mate ( *Ilex Paraguariensis* ) Twigs, *Dry. Technol.* 34 (2015) 474-482.
- [53] J. Ivanovic, M. Ristic, D. Skala, Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Helichrysum italicum*: Influence of CO<sub>2</sub> density and moisture content of plant material, *J. Supercrit. Fluids.* 57 (2011) 129–136.
- [54] R.A.B. Lima, M.C. Ferreira, Fluidized and vibrofluidized shallow beds of fresh leaves, *Particuology.* 9 (2011) 139–147.

## CAPÍTULO 5 – ARTIGO 3

Nesta seção estão descritas as metodologias e resultados e discussões para extração assistida por ultrassom, extração com líquido pressurizado e hidrodifusão e gravidade por micro-ondas da parte aérea de *Senecio brasiliensis*, com foco em dois alcalóides pirrolizidínicos: integerrimina e senecionina.

### **Extração de compostos bioativos de *Senecio brasiliensis* usando tecnologias emergentes**

Artigo publicado no Periódico *3 Biotech*

<https://doi.org/10.1007/s13205-021-02845-1>

#### **RESUMO**

Várias espécies de plantas sintetizam metabólitos secundários biologicamente ativos. Alcalóides pirrolizidínicos são um grande grupo de biotoxinas produzidas por milhares de espécies de plantas para proteção contra o ataque de insetos e herbívoros, mas são altamente tóxicos para humanos e animais. Neste estudo, extratos da parte aérea de *Senecio brasiliensis* foram obtidos por meio de diferentes tecnologias: extração assistida por ultrassom (EAU), extração com líquido pressurizado (ELP) e hidrodifusão e gravidade por micro-ondas (HGM). O estudo teve como objetivo avaliar a eficácia destas tecnologias para a extração de compostos químicos encontrados nesta planta, com foco em dois alcalóides pirrolizidínicos: integerrimina e senecionina. Parâmetros influentes no rendimento e na composição química também foram avaliados: para EAU e HGM, temperatura e pressão; para ELP, temperatura e porcentagem de etanol. Todas as técnicas de extração foram eficientes para a extração de integerrimina e senecionina. A extração assistida por ultrassom e a extração com líquido pressurizado destacaram-se pelos maiores rendimentos e número de compostos. A ELP apresentou rendimento máximo de 18,63% para a matriz folha e a EAU um rendimento máximo de 11,82% para a mesma matriz.

Palavras-chave: Gênero *Senecio*; Metodologias de extração inovadoras; Fitoquímicos; Extratos ricos em alcalóides

## 1. INTRODUÇÃO

As plantas sintetizam uma ampla gama de metabólitos secundários, a maioria dos quais evoluiu para promover a sobrevivência de plantas protegendo de fatores externos, como insetos, herbívoros, predadores e patógenos (Macedo et al. 2017; Thakur et al. 2019). Os metabólitos secundários foram convencionalmente divididos em três categorias: alcalóides, terpenóides e fenólicos (Zaynab et al. 2018). Os alcalóides pirrolizidínicos estão entre os mais hepatotóxicos e estão amplamente distribuídos em todo o mundo (Xu et al. 2019). Eles são encontrados em todas as partes da planta ou tecidos específicos, como raízes e sementes. Suas funções ecológicas importantes incluem a proteção das plantas contra pragas e herbívoros, a atração de insetos para a polinização e a composição de compostos importantes do ponto de vista farmacológico (Takshak e Agrawal 2019); no entanto, devido à sua toxicidade, eles também afetam humanos e animais (Wiedenfeld e Edgar 2011; Kaczyński e Łozowicka 2020).

Eles são encontrados principalmente em plantas das famílias Asteraceae, Boraginaceae, Fabaceae e Orchidaceae (Ratmanova et al. 2020). Dentro da família Asteraceae, destaca-se o gênero *Senecio*, que possui como compostos ativos tóxicos, os alcalóides pirrolizidínicos. Uma atenção especial é dada às espécies de *Senecio brasiliensis*, que apresentam a integerrimina e a senecionina como os principais alcalóides da pirrolizidina (Sandini et al. 2013). Os maiores teores de alcalóides são encontrados quando a planta está no período de floração, com variação considerável na quantidade do ingrediente ativo tóxico em diferentes partes da planta (Karam et al. 2004). *Senecio brasiliensis* é uma espécie de planta nativa e não endêmica popularmente conhecida como “Flor-das-Almas”, “Margaridinha” ou “Maria mole” (De Souza et al. 2015; Macedo et al. 2017). Geralmente está presente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, ocorrendo também no Uruguai, Paraguai e Argentina (Pilati e Barros 2007; Sandini et al. 2013).

Integerrimina e senecionina são compostos considerados alcalóides pirrolizidínicos ou fitotoxinas naturais comumente encontrados em plantas do gênero *Senecio* (Trigo et al. 2003; Toma et al. 2004; Elias et al. 2011; De Souza et al. 2015). Plantas com alcalóides pirrolizidínicos são consideradas causas comuns de intoxicações naturais que afetam rebanhos, animais selvagens e humanos (Elias et al. 2011; Sandini et al. 2013). Em estudos com diferentes doses de alcalóides pirrolizidínicos durante a gravidez em animais, Guo et al. (2013) verificaram perda pós-implante, mortalidade fetal, efeitos abortivos e fetotóxicos. Sandini et al. (2013) indicam que a exposição pré-natal ao N-óxido de integerrimina de *Senecio brasiliensis* induz toxicidade e afeta o desenvolvimento pós-natal de filhotes de ratos.

O método extrativo a ser aplicado é uma consideração importante na extração de compostos bioativos de plantas (Goltz et al. 2018) e várias técnicas de extração podem ser utilizadas. Tecnologias emergentes de extração estão sendo usadas com sucesso para alcançar uma extração “verde” e sustentável (Soquetta et al. 2018). Entre eles estão a extração assistida por ultrassom (EAU) (Wei et al. 2019), micro-ondas (MO) e extração com líquidos pressurizados (ELP) (Castejón et al. 2017; Santos et al. 2019b). Estas técnicas têm sido consideradas capazes de resolver problemas associados aos métodos convencionais de extração. EAU é um processo que simplifica as condições de manuseio e processamento, proporciona maior pureza do produto final, reduz a quantidade de solvente usado e também a energia necessária quando comparado aos métodos convencionais, por trabalhar em temperaturas mais baixas ou evitar a eliminação de solvente caro (Chemat et al. 2011).

A ELP apresenta várias características que o tornam um excelente substituto para os métodos convencionais de extração. O uso de alta temperatura e pressão durante a extração não só aumenta o rendimento da extração, mas também reduz o tempo e o consumo de solvente (Mustafa e Turner 2011). A extração de MO também ganhou enorme popularidade como um processo ecológico para extração de metabólitos secundários (Yu et al. 2013; Filly et al. 2014), aumentando a quantidade de extrato, reduzindo o tempo de extração, reduzindo o custo e o consumo de energia. No contexto do uso de MO, a técnica de extração conhecida como Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas (HGM) (Chemat et al. 2017) potencializou os limites da extração assistida por micro-ondas para um processo inovador, rápido, eficiente e ecológico, sem qualquer tipo de degradação na qualidade do extrato (González et al. 2013; López-Hortas et al. 2016; Benmoussa et al. 2018).

Considerando que os relatos da literatura para *Senecio brasiliensis* apontam a presença de alcaloides pirolizidínicos, houve interesse em investigar esta espécie vegetal. Além disso, há um número limitado de estudos sobre a composição química e rendimento de extração de partes aéreas dessas plantas (flores, folhas e caule), e até o momento nenhuma referência nas principais bases de dados científicas foi encontrada usando EAU, ELP e HGM como técnicas de extração. Assim, neste estudo foram avaliadas diferentes metodologias de extração nas seguintes respostas: rendimento dos extratos e composição química dos extratos, com especial atenção aos alcaloides pirrolizidínicos das diferentes matrizes vegetais de *Senecio brasiliensis*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Preparação da amostra

O material vegetal de *Senecio brasiliensis* (flores, folhas e caules) foi coletado em área de pastagem com solo compactado no norte do estado do Rio Grande do Sul (S: 27°55'39,43/W: 52°7'37,14). As amostras foram secas a 40°C até massa constante e mantidas a -4°C até as extrações.

### 2.2 Extração Assistida por Ultrassom

O aparato experimental (processador de ultrassom de alta intensidade de 400 W e frequência de 24 kHz - Hielscher, Model UP 400S, Alemanha, sonda de titânio Modelo H22, Tip 22) utilizado foi descrito por Sallet et al. (2019). Cada amostra (2,5 g) e 100 mL de solução hidroalcoólica (60 mL de etanol e 40 mL de água) foram utilizados para as extrações. Todas as extrações foram realizadas a 40°C ± 2°C por 30 min (definido com base em testes preliminares). Os experimentos foram planejados segundo um delineamento composto central rotacional (DCCR), onde as variáveis analisadas foram intensidade de potência (máximo de 85 W/cm<sup>2</sup>) e ciclo (valor máximo de 1,0 s/s). Após a extração, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 min. A fase líquida foi cuidadosamente coletada e os solventes evaporados sob vácuo a 40°C. O experimento controle foi realizado com maceração convencional na mesma temperatura e proporção de solvente (v/v), sem sonificação, mas com tempo superior a 24 h.

### 2.3 Extração por Líquidos Pressurizados

Para extração com líquido pressurizado, o método de extração dinâmica foi aplicado. Etanol e/ou água foram usados como solventes. Para os procedimentos de extração, aproximadamente 10 g de amostra (seca e moída) foram carregados na célula de extração. Em seguida, as condições de temperatura e pressão foram estabelecidas e o solvente foi bombeado do reservatório para a célula de extração por uma bomba de HPLC. Este método consiste em uma vazão contínua de solvente. O sistema foi mantido estático por 20 min e a extração dinâmica iniciada através da abertura micrométrica da válvula.

Os experimentos foram baseados em um DCCR. As variáveis avaliadas foram temperatura e porcentagem de etanol no solvente. As condições operacionais foram baseadas

no trabalho de Viganó et al. (2016). As temperaturas utilizadas foram 30, 45 e 60°C e as porcentagens de etanol no solvente foram 70, 85 e 100% (v/v). A pressão foi mantida a 10 MPa. As vazões do solvente foram 3,0, 2,8 e 2,7 mL/min para porcentagens de etanol de 100, 85 e 70%, respectivamente, para manter constante o fluxo de massa do solvente (2,4 g/min). O tempo de extração foi de 30 minutos. Os extratos obtidos foram coletados em frascos de vidro e armazenados a -18°C na ausência de luz para posterior análise.

O rendimento global de extração foi calculado de acordo com a seguinte equação

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{massa do extrato (g)}) / (\text{massa seca da matriz inicial (g)}) \times 100$$

(1)

## 2.4 Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas

A extração de HGM foi realizada em um equipamento de micro-ondas 2,45 GHz (NEOS-GR multimodo Milestone, Bergamo, Itália). As condições operacionais foram estabelecidas com base no trabalho de Ferreira et al. (2020), sob pressão atmosférica (0,1 MPa) e 400 W de potência por 20 min. Detalhes complementares sobre o equipamento e procedimento foram descritos por Ferreira et al. (2020). As amostras (100 g para cada matriz vegetal) foram umidificadas antes da extração, por imersão da planta no solvente por 1 h, possibilitando a absorção completa do líquido. Foram avaliadas as extrações embebendo as matrizes apenas em água ou em solução hidroalcoólica (60 mL de etanol e 40 mL de água). Após a extração, o extrato foi coletado em um recipiente fora da cavidade de irradiação de micro-ondas e o solvente foi evaporado para posterior análise cromatográfica.

## 2.5 Composição química

As amostras foram analisadas em sistema GC-Q/MS. Os procedimentos e detalhes do equipamento foram descritos anteriormente por Confortin et al. (2019). Pequenas modificações foram feitas no programa e a temperatura do injetor foi mantida em 320°C. 1 µL de cada amostra foi injetado com uma proporção de separação de 1:40. O programa de temperatura do forno utilizado foi de 5°C/min de 80 a 300°C (15 min de espera). A temperatura da interface foi mantida em 320°C e a temperatura da fonte de íons em 260°C. Os espectros de massa foram registrados acima de 35-500 amu, a 3,3s varreduras com energia de ionização de 70 eV. A

identificação dos componentes individuais foi feita por meio de seus índices de retenção relativos, de acordo com o Wiley Registry of Mass Spectral Data (Palisade Corporation, Newfield, NY).

## **2.6 Microscopia eletrônica de varredura**

A morfologia da amostra foi avaliada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Tescan, VEGA-3G, República Tcheca) acoplado a detector de elétrons secundário para obtenção das imagens. Para proceder a esta análise, as amostras foram recobertas com ouro (processo de metalização por spray, utilizando uma corrente elétrica de 20 mA por 90 s).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 Extração Assistida por Ultrassom**

A Tabela 1 apresenta as variáveis (intensidade e ciclo) e as respostas do DCCR. As matrizes de plantas apresentaram comportamentos semelhantes, com os maiores rendimentos obtidos no ensaio 4 com altos valores de intensidade de potência ( $75,11 \text{ W/cm}^2$ ) e ciclo (0,93), enquanto os menores rendimentos foram obtidos no ensaio 5 com a menor intensidade de potência ( $17 \text{ W/cm}^2$ ) e ciclo (0,75). Os rendimentos em peso variaram de 7,14% a 3,56% para a flor, de 11,82% a 6,13% para a folha e de 5,69% a 2,85% para o caule.

Comparando a extração convencional (ensaio 12) com a EAU de maior rendimento (ensaio 4), foram observados aumentos significativos de rendimento de 60, 50 e 60% para flor, folha e caule, respectivamente. O tempo de extração também deve ser levado em consideração. Para a extração convencional, o tempo foi de 24 horas, enquanto para a EAU foi de 30 minutos. Esses aumentos de rendimento podem ser explicados pelo fenômeno denominado cavitação acústica gerado pela sonda ultrassônica, que influencia o fluido ao redor das partículas sólidas e provoca alterações na estrutura interna do material vegetal (afetando a parede celular e/ou aumentando seus poros) (Trojanowska et al. 2019).



Tabela 1. Rendimentos das matrizes flor, folha e caule de *Senecio brasiliensis* obtidos por extração assistida por ultrassom usando um DCCR.

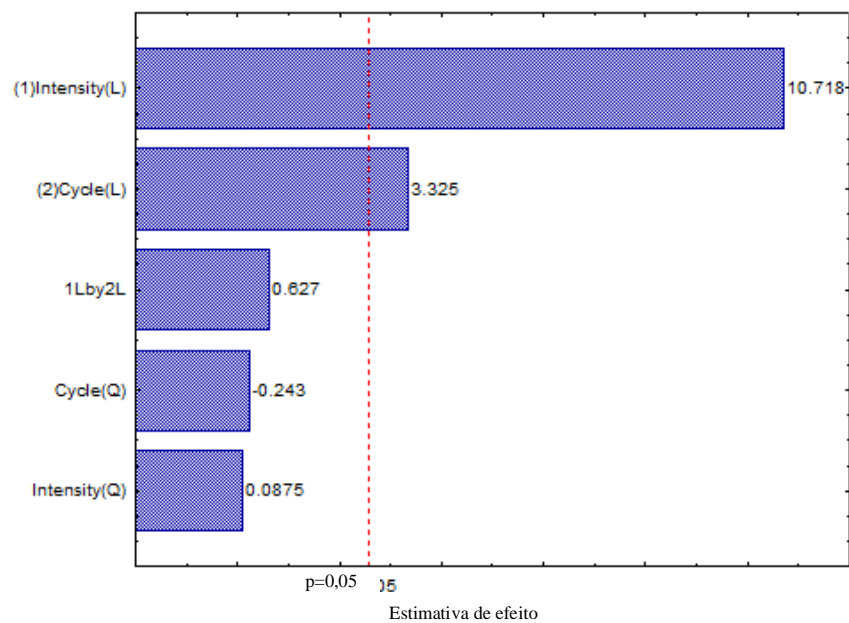
Ensaio	Intensidade de Potência (W/cm <sup>2</sup> )	Ciclo de trabalho (s/s)	Rendimento (wt.%)		
			Flores	Folhas	Caules
1	26,89 (-1)	0,57 (-1)	4,32	6,31	3,24
2	75,11 (1)	0,57 (-1)	6,41	10,15	4,55
3	26,89 (-1)	0,93 (1)	5,00	7,37	3,55
4	75,11 (1)	0,93 (1)	7,14	11,82	5,69
5	17 (-1,41)	0,75 (0)	3,56	6,13	2,85
6	85 (1,41)	0,75 (0)	6,52	10,68	5,57
7	51 (0)	0,50 (-1,41)	5,02	7,62	4,23
8	51 (0)	1,0 (1,41)	5,82	8,92	4,51
9	51 (0)	0,75 (0)	5,32	8,66	4,45
10	51 (0)	0,75 (0)	5,31	8,65	4,49
11	51 (0)	0,75 (0)	5,30	8,67	4,48
12	0	0	4,17	6,25	3,20

Os resultados apresentados na Tabela 1 foram utilizados para estimar os termos linear, quadrático e de interação das variáveis estudadas sobre as respostas. Os efeitos de cada variável sobre as respostas foram expressos em forma de gráfico de Pareto (Figura 1). Os termos lineares para intensidade de potência e ciclo de trabalho de ultrassom foram estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) para todas as matrizes vegetais estudadas (flor, folhas e caules), apresentando um efeito positivo, o que significa um aumento nos valores das variáveis leva a rendimentos mais elevados.

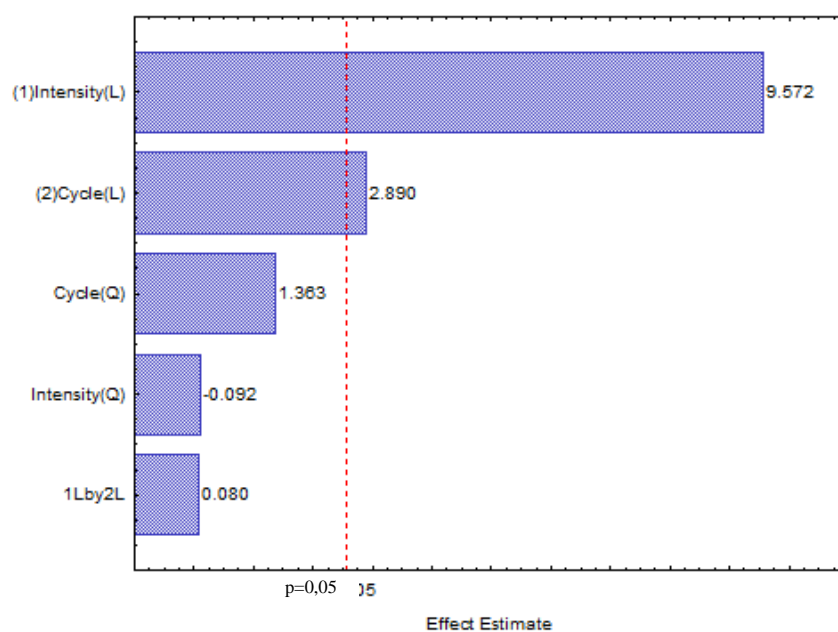
Os gráficos de superfície de resposta que ilustram a influência das variáveis experimentais (intensidade de potência e ciclo de trabalho) sobre o rendimento de extração estão resumidos na Fig. S1 nos dados suplementares. As EAU resultaram em rendimento máximo para a folha quando a intensidade de potência variou de 75 W/cm<sup>2</sup> a 85 W/cm<sup>2</sup> e o ciclo de trabalho variou de 0,60 a 1,0. Para a flor, o rendimento máximo foi obtido na mesma faixa de intensidade de força que para a folha, enquanto o ciclo de trabalho variou de 0,75 a 1,0. Por fim, para o caule, a melhor faixa de intensidade de potência foi a mesma das demais matrizes e o ciclo de trabalho variou de 0,70 a 1,0. Os resultados indicam que um aumento nos valores das variáveis potencializa a extração dos compostos das matrizes avaliadas neste trabalho. Esses dados são corroborados por Sharayei et al. (2019), que obtiveram os maiores rendimentos para extração de *Punica granatum* em alta intensidade de potência e ciclos de trabalho. Aumentando a intensidade de potência do ultrassom, os autores atribuem o aumento do rendimento da extração ao fenômeno da cavitação gerado pela sonicação, que aumenta a

permeabilidade do tecido vegetal. Sallet et al. (2019) também obteve maiores rendimentos de óleo de *Mortierella isabelina* ao usar os maiores valores para intensidade de energia e ciclo de trabalho.

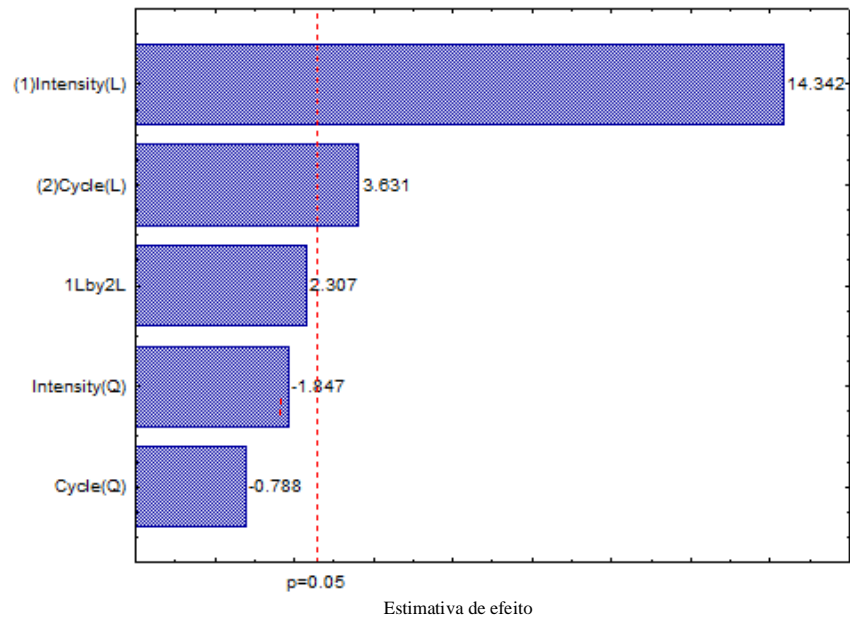
Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de processo no rendimento de extração de *Senecio brasiliensis* usando EAU para (a) folha, (b) flor e (c) caule.



(1a)

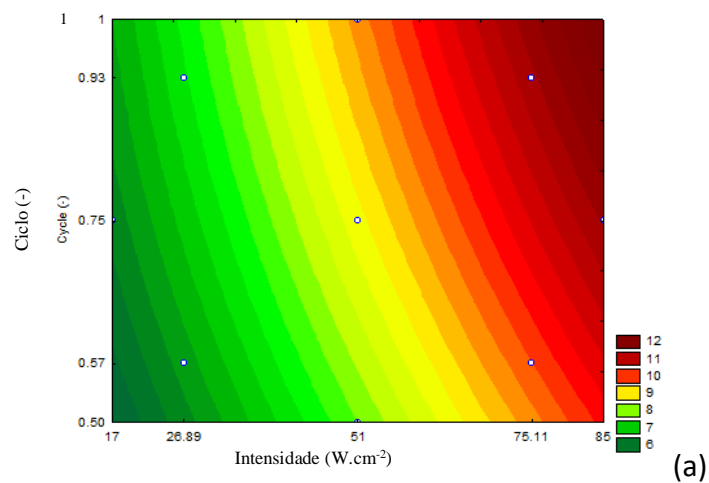


(1b)

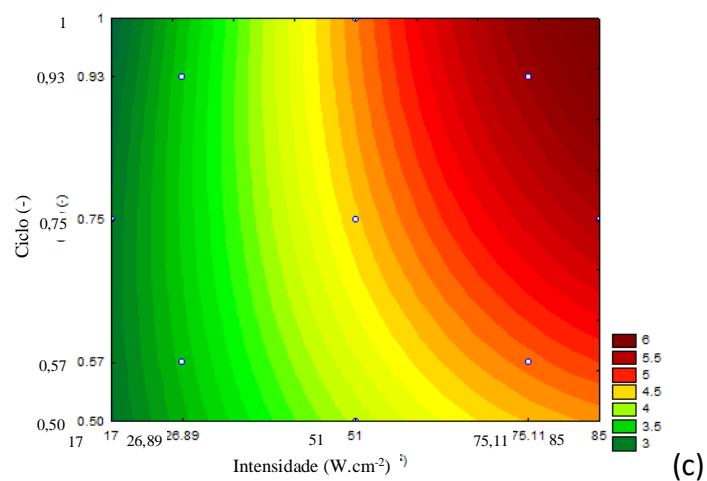
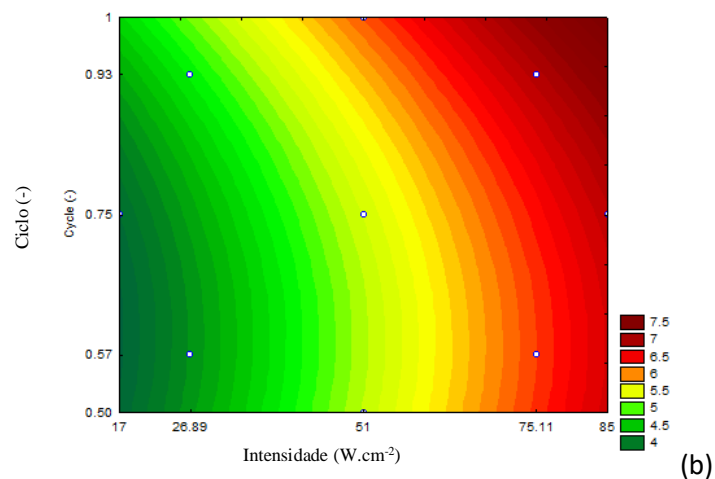


(1c)

Figura S1. Gráficos de superfície de resposta sobre o rendimento de extração de *Senecio brasiliensis* usando EAU para (a) folha, (b) flor e (c) caule.



1



### 3.2 Extração Etanólica

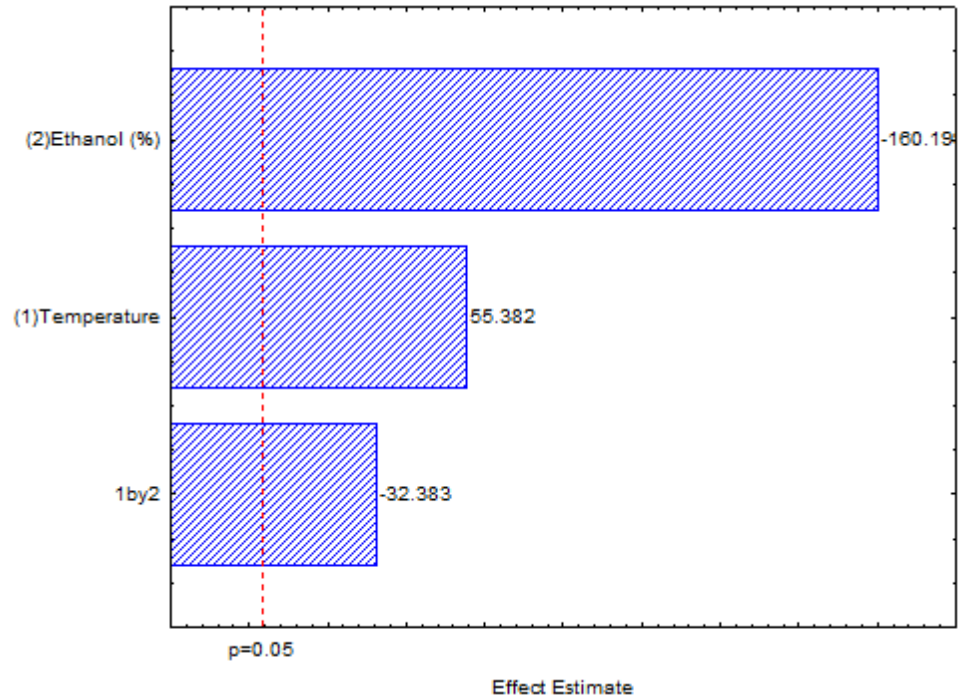
Os rendimentos para as diferentes matrizes vegetais estudadas são apresentados na Tabela 2. Os comportamentos de todas as matrizes vegetais de *Senecio brasiliensis* estudadas foram semelhantes. O ensaio 3 (60°C e etanol 70% v/v) foi o que resultou nos maiores rendimentos, enquanto os menores rendimentos foram obtidos nos ensaios com menor temperatura (30°C) e maior quantidade de etanol (100% v/v). Notavelmente, os rendimentos usando líquidos pressurizados foram maiores do que usando a EAU.

Tabela 2. Rendimentos das matrizes flor, folha e caule de *Senecio brasiliensis* obtidas por extração com líquido pressurizado usando um DCCR.

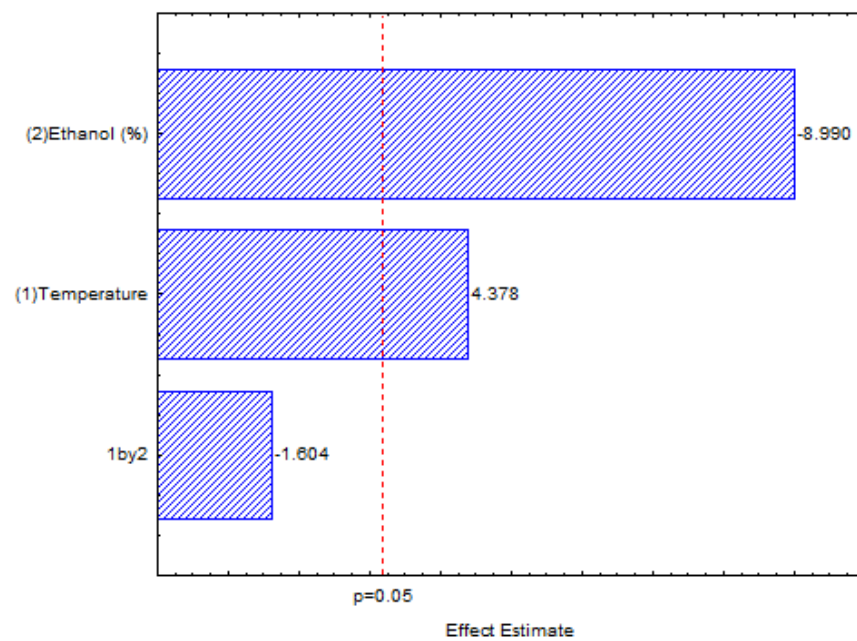
Ensaio	T (°C)	Etanol (% v/v)	Rendimento (wt.%)		
			Folha	Flor	Caule
1	(-1) 30	(-1) 70	11,99	7,72	8,65
2	(-1) 30	(+1) 100	2,32	1,25	1,52
3	(+1) 60	(-1) 70	18,63	12,96	10,65
4	(+1) 60	(+1) 100	4,06	3,68	3,03
5	(0) 45	(0) 85	9,29	5,09	6,27
6	(0) 45	(0) 85	9,39	5,09	6,85
7	(0) 45	(0) 85	9,24	5,89	6,10

Os resultados apresentados na Tabela 2 foram utilizados para estimar os termos linear, quadrático e de interação das variáveis estudadas sobre as respostas. Os efeitos de cada variável sobre as respostas foram expressos em forma de gráfico de Pareto (Figura 2). Os efeitos lineares da temperatura e da quantidade de etanol foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) para todas as matrizes vegetais de *Senecio brasiliensis*. A temperatura apresentou um efeito positivo, o que significa que um aumento nesta variável leva a maiores rendimentos. Na comparação dos ensaios 1 e 3, pode-se observar que os maiores rendimentos foram obtidos com a maior temperatura, enquanto a porcentagem de etanol foi mantida constante, ou seja, o aumento da temperatura leva a maiores rendimentos para todas as porcentagens de etanol estudadas. Por outro lado, o percentual de etanol apresentou efeito negativo, o que significa que quanto maior o percentual de etanol no solvente, menor o rendimento.

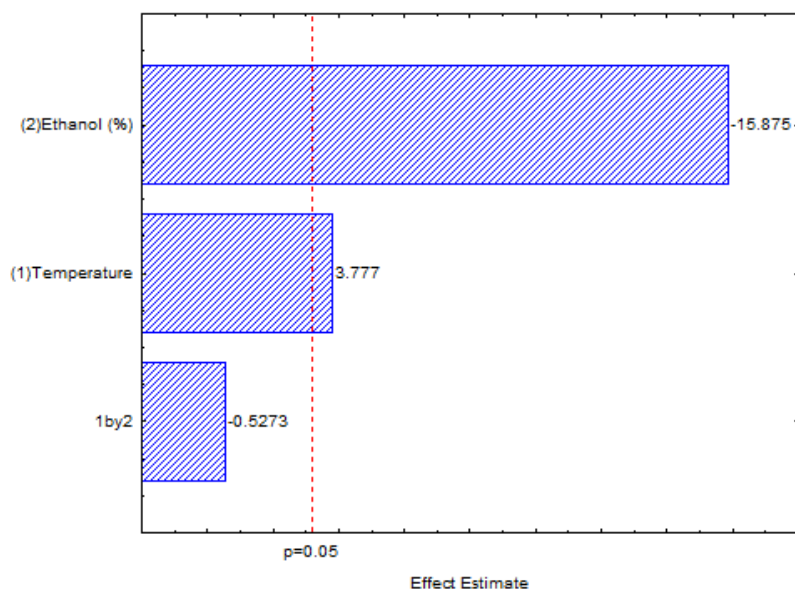
Figura 2. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de processo no rendimento de extração de *Senecio brasiliensis* usando ELP para (a) folha, (b) flor e (c) caule.



(a)



(b)



(c)

A temperatura nas extrações com líquidos pressurizados desempenha um papel importante no rendimento dos extratos obtidos (Carabias-Martínez et al. 2005). À medida que a temperatura aumenta, a viscosidade e a tensão superficial dos solventes diminuem e a difusividade aumenta, aumentando assim a capacidade dos solventes de penetrar na matriz e acelerando a dissolução dos compostos de interesse no extrato (Hossain et al. 2011; Cheong et al. 2013; Viganó et al. 2016). Assim, a taxa de transferência de massa aumenta e, conseqüentemente, maiores rendimentos globais podem ser alcançados (Machado et al. 2015).

Quanto à influência da porcentagem de etanol, o maior rendimento de extração foi encontrado com etanol 70% v/v. De acordo com Mustafa e Turner (2011), o uso de misturas de solventes aumenta os rendimentos de extração, melhorando a solubilidade e aumentando a interação entre os componentes-alvo e o solvente de extração. O uso de misturas binárias pode ter um efeito sinérgico: enquanto um solvente aumenta a solubilidade dos compostos alvo, o outro pode favorecer sua dessorção, aumentando os rendimentos de extração (Pereira et al. 2019). Portanto, a água é geralmente importante para ajudar a quebrar as ligações matriz e soluto-matriz (Viganó et al. 2016).

Os resultados encontrados neste trabalho seguem Zaibunnisa et al. (2009), onde o rendimento de oleorresina obtido das folhas de açafrao aumentou significativamente com o aumento da temperatura. Viganó et al. (2016), ao avaliarem o rendimento de compostos

bioativos na casca de maracujá, relataram um aumento no rendimento ao utilizar temperaturas mais altas e mistura de solventes. Setyaningsih et al. (2016) relataram o uso de mistura de solventes e temperaturas elevadas como uma condição ótima de extração para a extração de compostos fenólicos do grão de arroz. Para Barrales et al. (2018), o aumento da temperatura teve efeito positivo no rendimento geral em todas as concentrações de etanol avaliadas e na composição do solvente. A adição de água ao etanol aumentou o rendimento geral dos extratos de casca de laranja.

### 3.3 Extração por Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas

Os dados de rendimento são apresentados na Tabela 3. Apenas o uso de diferentes solventes para umidificação das plantas foi avaliado. A potência de saída foi de 400 W e o tempo foi de 20 min, o que foi suficiente para a extração completa da planta. Os rendimentos obtidos com a umidificação das plantas com água e com a solução hidroalcoólica foram muito semelhantes; entretanto, o resultado com solução hidroalcoólica apresentou ligeiro aumento. A matriz vegetal que resultou em melhor rendimento foi a flor com 0,68%, seguida das folhas com 0,64% e por fim o caule com 0,26% (Tabela 3).

Tabela 3. Rendimentos das matrizes flor, folha e caule de *Senecio brasiliensis* obtidas por Extração por Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas.

Ensaio	Potência do Micro-ondas (W)	Solvente	Rendimento (wt.%)		
			Flor	Folha	Caule
1	450	Água	0,68	0,64	0,26
2	450	Solução hidroalcoólica	0,64	0,63	0,27

Não há relatos na literatura descrevendo o uso de MHG para *Senecio brasiliensis*. Os rendimentos obtidos com esta técnica são semelhantes aos obtidos por Confortin et al. (2019) usando dióxido de carbono supercrítico. Pode-se dizer que esta técnica de extração, quando comparada à EAU e à ELP, obteve os menores rendimentos. No entanto, a técnica de MHG demonstrou capacidade de extrair os extratos das matrizes vegetais completamente em 15 min. Os rendimentos obtidos neste trabalho utilizando MHG para extração foram inferiores ao rendimento do óleo essencial de cominho (1,57%) obtido por Benmoussa et. (2018) em 16 min com uma potência de 200 W. Ferreira et al. (2020) obteve rendimento de 2,32% na extração do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* nas mesmas condições utilizadas neste trabalho



(potência de 400 W e 20 min). Os rendimentos obtidos neste trabalho foram superiores aos de Bousbia et al. (2009) na extração de folhas de *Rosmarinus officinalis*, onde o rendimento foi de 0,33% com condições de 15 min e 1000 W.

Os baixos rendimentos podem ser explicados pelo uso excessivo da potência de irradiação das micro-ondas. É importante mencionar também que a técnica MHG possui uma relação volume de solvente/massa da planta muito menor e este pode ser um fator influente, uma vez que menos solvente é utilizado no processo e, conseqüentemente, a eficiência é menor. O uso de baixo tempo de extração não foi suficiente para recuperar a totalidade do extrato de *Senecio brasiliensis*. Cui et al. (2017) descrevem que um maior poder de irradiação pode causar uma diminuição no rendimento porque pode ocorrer a pirólise de alguns componentes voláteis. Para acelerar a taxa de transferência de massa e melhorar o rendimento da extração, as melhores condições de extração devem ser investigadas para trabalhos futuros. No entanto, é importante mencionar que após a extração de MHG o material vegetal é seco. Portanto, o MHG pode ser utilizado para desidratação e obtenção simultânea do extrato, conforme proposto recentemente por Farias et al. (2021). Além disso, a planta seca pode ser usada em combinação com outro método de extração para uma extração eficaz.

### 3.4 Composição química em GC-MS

Como pode ser visto nas Tabelas 4, 5 e 6, as técnicas utilizadas na extração de metabólitos secundários foram semelhantes e os extratos contêm vários constituintes fitoquímicos. Muitos desses compostos são descritos na literatura por apresentarem atividade biológica, como 5H-1-piridina, fenol, ácido hexadecanóico, guanossina, ácido octadecadienóico, 2-metoxi-4-vinilfenol, propanotriol e cinerina. Alguns dos compostos encontrados nas matrizes vegetais e suas bioatividades são descritos abaixo:

- 2-Metoxi-4-vinilfenol: antimicrobiano, antioxidante, antiinflamatório e analgésico (Chhouk et al. 2018);
- Ácido octadiênico: antiinflamatório, nematicida, inseticida (Chhouk et al. 2018);
- Ácido hexadecanóico: antioxidante, nematicida, pesticida (Chhouk et al. 2018);
- Fenol: antimicrobiano, antiinflamatório, antioxidante (Barretto e Vootla 2018; Chhouk et al. 2018);

- Propanetriol: antimicrobiano, antiinflamatório, antifúngico (Foo et al. 2015; Casuga et al. 2016);
- Guanosina - anticâncer (Lee et al. 2007);
- D-Allose: atividade antioxidante (Chhouk et al. 2018);
- Cinerin II - Phyretrin: pesticida (Gallo et al. 2017; Chen et al. 2018);
- Celidoniol: antibacteriano (Bülent Köse et al. 2016), antiinflamatório (Zakaria et al. 2014; Barretto e Vootla 2018).

Os extratos obtidos pelas EAU das folhas de *Senecio brasiliensis* apresentaram 17 constituintes diferentes; os extratos da flor apresentaram 13 constituintes e os extratos do caule 14 constituintes, conforme apresentado nas Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3, respectivamente. O método de EAU foi muito eficiente para extração de alcaloides pirrolizidínicos. Os resultados mostraram que a integerrimina era o composto principal, representando aproximadamente 50% da área total do pico. Confortin et al. (2019) corroboraram com os resultados deste trabalho, uma vez que utilizando dióxido de carbono supercrítico, obtiveram níveis elevados de alcaloides pirrolizidínicos como a integerrimina como principal composto em flores e folhas de *Senecio brasiliensis*. Vale ressaltar que o alcaloide pirrolizidina senecionina também foi extraído das matrizes folha e flor neste trabalho.

Tabela 4.1. Compostos químicos obtidos usando a EAU para a folha de *Senecio brasiliensis*.

Ensaio	Área Relativa (%)									
	Folha									
	Ultrassom									Maceração
	1	2	3	4	5	6	7	8	9/10/11	12
<b>Compostos</b>										
Propanetriol	3,26	3,52	3,32	1,0	3,86	3,63	3,27	3,96	4,12	2,10
5H-1-Pyridine	7,83	8,59	6,11	10,46	7,66	10,37	5,12	9,10	7,17	5,10
Guanosine	2,20	3,50	2,10	3,56	1,36	12,08	-	2,96	5,55	-
D-Allose	1,34	-	1,50	2,89	1,17	2,03	2,10	2,08	4,21	-
alpha-D-Galactopyranoside	1,28	-	-	1,65	-	1,25	-	-	-	-
Phenol	1,50	2,79	2,41	4,47	1,18	3,73	1,25	2,00	2,43	2,41
Octadecadienoic acid	1,84	0,68	2,10	1,66	-	1,40	1,36	3,12	5,63	1,20
Hexadecanoic acid	2,27	1,61	2,88	2,93	0,88	-	0,98	1,88	1,26	1,36
Ethyl Linoleolate	1,46	1,12	0,85	1,32	-	1,10	-	-	-	-
Integerrimine	67,25	67,18	71,56	60,26	71,98	54,18	75,91	59,02	55,47	73,91
Tricosanoic acid	3,01	1,24	2,36	0,21	2,36	-	2,36	8,25	7,52	2,23
2-Methoxy-4-vinylphenol	-	2,79	-	3,70	-	2,76	1,85	1,10	1,82	-
Cinerin II	-	1,66	2,31	1,36	1,58	1,26	1,74	1,15	1,08	2,36
Pentadecanoic acid	-	0,63	0,25	0,25	-	-	0,92	-	-	4,21
Senecionine	6,20	1,19	1,23	3,19	6,92	4,11	1,36	2,78	2,25	5,12
Germacrene D	0,56	3,50	1,02	1,09	-	2,10	1,78	1,75	1,26	-
Butanoic acid	-	-	-	-	1,05	-	-	0,85	0,23	-

Tabela 4.2. Compostos químicos obtidos usando EAU para a flor de *Senecio brasiliensis*.

Ensaio	Área relativa (%)									
	Flor									Maceração
	Ultrassom									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9/10/11	12
<b>Compostos</b>										
Propanetriol	3,73	-	3,72	-	4,42	0,63	4,62	0,80	1,15	3,68
5H-1-Pyridine	9,21	10,09	9,51	10,12	9,87	11,74	9,04	8,26	8,59	7,52
Hexadecanoic acid	2,36	3,08	3,24	4,12	2,01	3,12	2,05	1,65	1,23	0,96
Octadecadienoic acid	1,89	1,96	1,79	2,10	1,61	1,50	1,89	1,14	1,26	-
Octadecanoic acid	1,12	0,98	3,36	0,21	2,40	0,36	2,36	0,36	0,96	2,31
Cinerin II	1,38	0,35	1,99	1,36	-	0,69	-	-	-	2,96
Integerrimine	66,58	66,14	64,33	63,57	65,48	62,65	66,87	83,14	76,55	72,52
2-Methoxy-4-vinylphenol	1,99	2,38	2,07	2,20	1,63	2,66	1,07	1,57	1,02	-
Guanosine	2,36	3,65	3,98	4,21	2,07	3,91	3,77	1,03	1,45	-
Celidoniol	1,96	2,34	1,36	3,20	2,01	2,83	1,39	1,75	1,63	1,34
Phenol	3,21	3,69	1,97	4,12	2,27	3,33	2,29	0,30	2,69	-
Pyrrolidine	-	2,36	-	1,10	-	3,37	0,89	-	1,40	2,34
Senecionine	4,21	2,98	2,68	3,69	6,23	3,21	3,76	-	2,07	6,37

Tabela 4.3. Compostos químicos obtidos usando EAU para a caule de *Senecio brasiliensis*

Área relativa (%)										
Ensaio	Caule									
	Ultrassom									Maceração
	1	2	3	4	5	6	7	8	9/10/11	12
<b>Composição</b>										
Propanetriol	2,18	1,95	1,25	1,46	1,06	1,93	1,82	1,34	3,95	2,23
5H-1-Pyridine	7,69	9,00	8,98	10,30	6,35	9,79	6,95	8,04	8,08	5,26
2-Methoxy-4-vinylphenol	-	2,76	-	3,14	-	2,31	3,37	2,33	2,43	-
D-Allose	2,85	2,79	2,69	3,56	1,48	2,57	2,57	3,18	-	2,36
Phenol	4,31	5,04	4,58	6,61	4,14	6,37	5,17	5,48	5,45	-
Benzenedicarboxylic acid	2,41	2,28	2,44	2,10	2,07	2,27	1,59	1,23	2,36	2,10
Octadecadienoic acid	2,57	-	-	1,36	2,26	1,23	-	-	-	1,25
Hexadecanoic acid	4,05	5,59	3,69	5,47	3,59	4,38	4,23	4,56	4,20	3,15
Eicosadienoic acid	1,89	-	-	0,95	3,47	1,23	-	-	-	2,10
Integerrimine	58,11	55,66	62,26	50,40	63,83	50,02	69,58	61,65	61,35	79,45
Tricosanoic acid	2,24	2,10	2,54	2,96	2,08	2,85	-	1,39	1,02	-
Guanosine	4,69	5,21	4,69	5,31	4,89	7,45	-	4,25	4,27	-
beta.-D-Glucopyranose	2,45	2,36	2,54	2,09	1,03	2,62	1,15	2,36	2,53	-
Cinerin II	4,56	5,26	4,34	4,29	3,75	4,98	3,57	4,19	4,36	2,10



Tabela 5.1 Compostos químicos obtidos por ELP para a folha de *Senecio brasiliensis*.

Ensaio	Área Relativa (%)				
	Folha				
	1	2	3	4	5/6/7
<b>Compostos</b>					
1,2,3-propanetriol	-	2,57	4,04	4,93	-
5h-1-pyridine	6,26	4,45	5,71		6,41
Neophytadiene	-	-	1,20	6,04	6,80
Spathulenol	3,80	2,58	1,49	-	1,47
Caryophyllene oxide	-	-	15,65	-	-
5,6-hydroxytryptamine	-	-	-	-	2,68
1H-Indene, 5-butyl-6-hexyloctahydro-	-	-	-	-	2,64
Copper, bis(4-chloro-3,5-cyclohexadiene-1,2-dione 2-oximato-N2,O1)- (CAS)	-	-	-	-	3,42
3,3-Dimethyl-4-(3,3,4,4-tetramethyloxetan-2-ylidene)butan-2-one	4,06	-	1,02	-	-
Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy-, (5.alpha.)- (CAS)	1,95	-	0,36	-	-
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester (CAS)	3,31	-	5,23	-	-
Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester (CAS)	2,30	-	1,39	-	-
2-Hexadecen-1-ol	1,03	16,89	2,65	5,60	6,45
Eicosane ou eicosanol	12,0	2,01	1,63	-	1,82
1,5,9,13-tetradecatetraene	1,34	-	-	-	-
N-Isobutyl-tetradeca-2,4-dienamide	0,83	-	-	-	-
Integerrimine	35,44	32,46	36,27	10,54	24,35
Tricosane	-	-	-	-	
Pentacosane	8,29	2,86	-	-	-
2-Pentadecanone	-	1,96	1,64	-	-
Tetratetracontane	7,49	-	-	1,84	-
Hentriacontane	4,67	-	-	-	-
Tetracontane	-	-	-	1,45	-
Stigmast-5-en-3-ol	2,32	-	4,68	9,33	-
Methyl commate d	4,91	2,90	11,09	56,88	41,09
Hexadecanoic acid	-	-	2,36	-	-
Lupeyl acetate	-	27,35	-	-	-
Senecionine	-	3,97	2,36	-	2,87
Celidoniol	-	-	1,23	3,39	-





Tabela 5.2 Compostos químicos obtidos por ELP para a flor de *Senecio brasiliensis*.

Ensaio	Área Relativa (%)				
	Flor				
	1	2	3	4	5/6/7
<b>Compostos</b>					
DI-Glyceraldehyde	3,84	-	-	-	-
2-Propanone, 1,3-dihydroxy	2,59	3,52	-	1,44	-
5h-1-pyridine	2,16	10,87	5,48	4,47	4,83
Spathulenol	11,00	2,92	2,33	-	1,85
Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy-, (5.alpha.)	4,48	-	-	-	-
Phenol	-	-	1,45	-	-
Octanal	2,18	-	-	-	-
Phosphonic acid, dioctadecyl ester	1,63	-	-	-	-
Neophytadiene	5,24	-	-	-	-
2-pentadecanone	3,51	-	-	-	-
1,2-Benzenedicarboxylic acid	4,99	0,83	1,04	1,91	1,27
4-Benzyloxybenzoic acid	8,08	-	0,46	1,27	-
2-Hexadecen-1-ol	4,98	-	1,91	-	0,75
1,5,9,13-tetradecatetraene	2,80	-	-	-	-
Integerrimine	9,94	2,97	46,24	1,65	17,31
1-eicosanol	3,74	-	-	-	-
Hexacosane	5,30	-	-	-	1,47
Stigmast-5-en-3-ol	23,54	3,65	6,30	1,91	4,07
Hexadecanoic acid	-	3,25	2,47	-	0,42
Senecionine	-	60,35	10,25	24,89	28,97
9-octadecenamide	-	1,15	-	-	-
Methyl commate d	-	8,14	7,96	2,92	5,54
Hentriacontane	-	2,35	-	17,87	-
Eicosane	-	-	-	0,74	-
Pentacosane	-	-	-	12,78	0,53
Tetratetracontane	-	-	-	13,09	1,31
Celidoniol, deoxy-	-	-	0,69	12,71	22,47
14,16-hentriacontanedione	-	-	-	2,35	-
Andrographolide	-	-	0,83	-	-
Ethyl linoleate	-	-	1,64	-	-
N-Isobutyl-tetradeca-2,4-dienamide	-	-	1,64	-	0,74
N-Terpinenyl ester of n-pentanoic acid	-	-	1,76	-	-
1-pentacontanol	-	-	2,11	-	-
Methyl commate c	-	-	3,27	-	3,76
Patchoulane	-	-	-	-	1,02
Usaramine	-	-	2,17	-	0,83



Tabela 5.3. Compostos químicos obtidos por ELP para caule de *Senecio brasiliensis*.

Ensaio	Área Relativa (%)				
	Caule				
	1	2	3	4	5/6/7
<b>Compostos</b>					
2-Propanone, 1,3-dihydroxy- (CAS)	4,09	6,86	4,97	6,21	7,67
Propanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	5,07	-	1,07	-	
DI-Glyceraldehyde	9,05	-	3,90	-	5,40
2-furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)	-	-	1,80	-	-
Spathulenol	7,74	-	7,43	-	5,49
3.36 Caryophyllene oxide		-	3,36		
Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy-, (5.alpha.)- (CAS)	5,83	-	-	-	-
4.24 Phenol, 4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxy- (CAS)	4,24	-	1,04	14,20	5,30
1.34 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl- (CAS)	1,34	-	2,47	5,25	3,02
1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl)	-	-	3,88	2,36	1,73
4-Benzyloxybenzoic acid			2,74		
Heptadecanoic acid, ethyl ester (CAS)	7,46	-	1,32	6,19	2,37
Neophytadiene	-	-	4,34	-	1,98
1-Heneicosyl formate			-	7,33	
N-Methyl-L-prolinol	-	19,10	-	-	
6-(2-methoxy-phenyl)-5,7-diphenyl-2,3,6,7-tetrahydro-1h-pyrrolo[3,4-e][1,4]diazepin-8-one	-	5,37	-	-	
Quinic acid	-	9,46	-	-	
1-eicosanol	-	-	7,64	-	2,44
Hexadecanoic acid, ethyl ester (CAS)	8,27	16,72	1,82	-	12,93
Cholesta-4,6-dien-3-ol, (3.beta.)- (CAS)	-	4,56	2,14	8,85	4,49
Stigmast-5-en-3-ol, (3.beta.)- (CAS)	14,98	30,0	12,39	11,80	18,18
Stigmast-4-en-3-one	14,65	-	7,71	10,00	5,77
Integerrimine	17,28	7,93	24,32	23,61	9,36
Senecionine	-	-	3,36	4,20	0,79
5h-1-pyridine	-	-	2,30	-	2,24
9-octadecenamide			-		10,84



Tabela 6. Compostos químicos obtidos usando MHG para a folha, flor e caule de *Senecio brasiliensis*.

Ensaio	Área Relativa (%)					
	Folha		Flor		Caule	
	Água	Água /Etanol	Água	Água /Etanol	Água	Água /Etanol
<b>Compostos</b>						
2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)	23,49	-	-	-	-	8,45
9-Octadecenamide, (Z)- (CAS)	20,0	-	-	-	17,02	-
5H-1-Pyridine	5,01	5,78	6,17	5,78		9,09
GERMACRENE-D	-	-	9,98	-	12,21	24,29
Senecionine	1,36	-	6,83	-	2,28	-
Integerrimine	50,14	94,22	77,02	79,23	51,37	58,17
2,3-Butanediol	-	-	-	14,99	-	-
Bicyclo[2.2.1]heptane, 2-cyclopropylidene-1,7,7-trimethyl	-	-	-	-	17,12	-



Diferentes compostos foram encontrados em diferentes condições de intensidade de potência e ciclo de trabalho das EAU (Tabelas 4.1, 4.2 e 4.3) para as três matrizes investigadas. A maior quantidade dos compostos foi encontrada com uma intensidade de potência de 85 W/cm<sup>2</sup> e um ciclo de trabalho de 0,75 s/s. Altos valores de intensidade de potência e ciclo de trabalho também foram responsáveis pelos maiores rendimentos de extração, o que significa que quanto maiores as variáveis da EUA, maior a extração dos compostos bioativos e maiores os rendimentos. O violento colapso das bolhas gerado pelo fenômeno da cavitação do ultrassom, provoca a destruição das paredes celulares e, conseqüentemente, favorece o acesso do solvente aos analitos podem explicar esse comportamento (Goltz et al. 2018; Santos et al. 2019a). Ao comparar as técnicas de maceração e as EUA quanto ao número de compostos extraídos, fica evidente que as EAU superaram o método convencional de extração. Esse resultado é corroborado por Das et al. (2018), que comparou a técnica de EAU com a extração convencional e obteve uma quantidade significativamente maior de metabólitos bioativos do extrato de chá verde usando os EUA.

Nos extratos obtidos pela ELP, foram identificados 29 compostos para a matriz folha, 37 para a flor e 26 para as matrizes do caule (Tabelas 5.1, 5.2 e 5.3). Os extratos das três matrizes apresentaram alcaloides pirrolizidínicos em sua constituição. Ao comparar as áreas dos picos dos alcalóides pirrolizidínicos obtidos por ELP e EAU, os extratos de ELP apresentaram os menores percentuais de áreas de pico. Esses achados podem ser explicados pelo fato de a técnica de ELP extrair uma quantidade maior de compostos bioativos do que a técnica de EAU, reduzindo a concentração de alcaloides pirrolizidínicos no extrato. Os compostos foram extraídos em maior quantidade utilizando etanol a 60°C e 70% (v/v) para todas as matrizes. Esses resultados podem ser explicados pelas características do solvente, uma vez que soluções hidroalcoólicas solubilizam compostos hidrofílicos e lipofílicos (Hirondart et al. 2020). A mistura de água e etanol é capaz de dissolver compostos de moderada a alta polaridade e isso é apreciável quando se espera extrair uma grande variedade de compostos (Barrales et al. 2018).

Ressalta-se que a integerrimina foi encontrada nos maiores percentuais na condição citada (60°C e 70% (v/v) de etanol). Essa técnica foi eficiente para a extração da integerrimina, uma vez que para a folha representou 35,27% da área total do pico, para a flor foi 46,24% e 24,32% para o caule. Os resultados obtidos na ELP são corroborados por Viganó et al. (2016), que também obtiveram mais bem resultados na condição de 60°C e 70% de etanol na extração de compostos bioativos da casca do maracujá. Kopp et al. (2020) afirmam que a ELP é um método eficiente para extração de alcaloides piridínicos e pode levar a taxas de recuperação

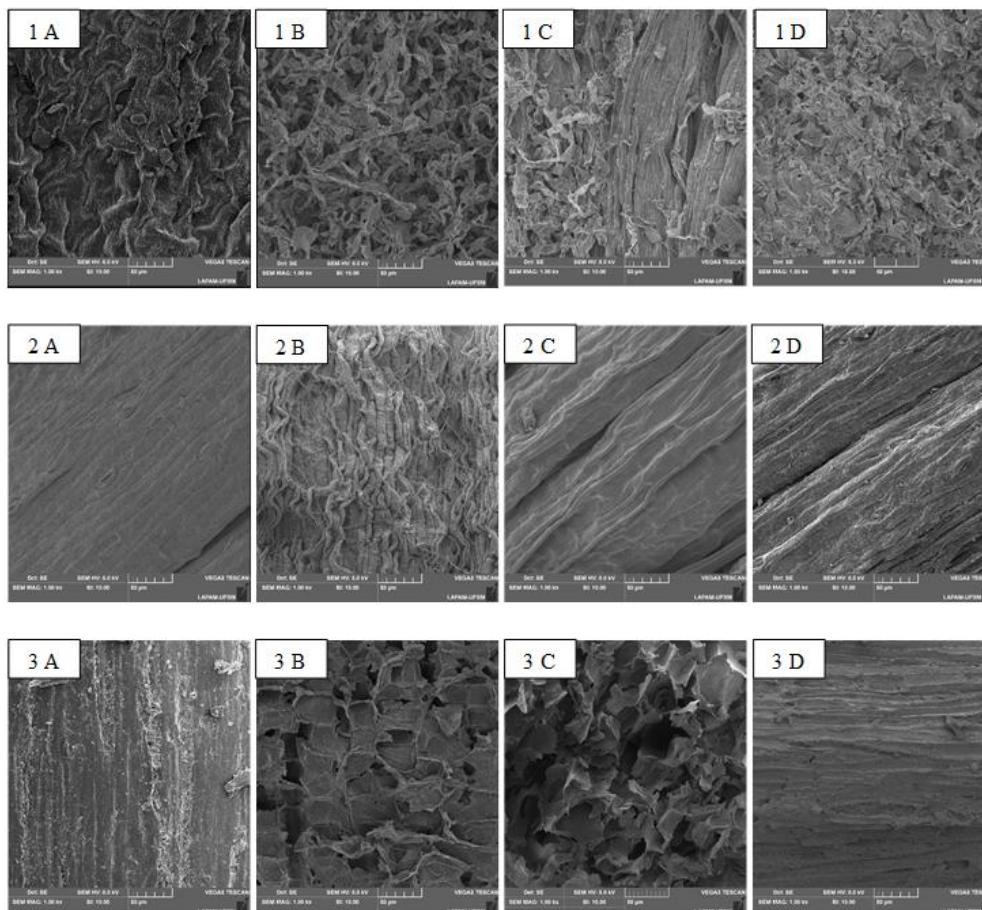
consideravelmente aumentadas quando comparado às técnicas convencionais, sendo uma estratégia de extração aprimorada.

Para as extrações realizadas com MHG, oito compostos diferentes foram obtidos e identificados (Tabela 6). Apesar do menor número de compostos extraídos quando comparada aos demais métodos de extração, a extração com MHG foi eficiente e seletiva para a extração da integerrimina, apresentando para todas as matrizes mais de 50% da área relativa do pico de tais compostos. É importante salientar que um dos benefícios da MHG é a velocidade, uma vez que 20 minutos foram suficientes para extrair uma alta porcentagem do composto alvo. Esse resultado é corroborado por Benmoussa et al. (2018), que relataram que em 16 minutos de extração de MHG níveis satisfatórios de óleo essencial de cominho foram obtidos. Quando se usa solução hidroalcoólica, os percentuais de integerrimina são mais pronunciados do que quando se usa apenas água, chegando a 94,22% para a folha, 79,23% para a flor e 58,17% para o caule. Este é um resultado promissor, uma vez que os dois solventes utilizados são considerados ecologicamente corretos e contribuem para a utilização de soluções mais sustentáveis (Prat et al. 2015).

Para melhor compreensão dos resultados, as matrizes foram submetidas à análise de MEV. Notadamente, mudanças estruturais ocorreram nas matrizes ao comparar antes e após da extração por meio das três técnicas utilizadas (Figura 3). As superfícies das matrizes após a EAU e a ELP apresentaram alterações mais visíveis quando comparadas às amostras antes da extração. É claro que as células são mais danificadas após a EAU e a ELP. A parede apresenta quebras notáveis, com aparecimento de fissuras. Isso pode explicar os maiores rendimentos e número de compostos obtidos por essas duas técnicas, pois as rupturas facilitam a liberação dos compostos. Ao analisar as amostras de MHG, uma maior integridade da parede celular da matriz pode ser observada após a extração, mas ao comparar com as amostras antes da extração, nota-se uma leve ruptura celular. Isso explica o menor rendimento e número de compostos quando comparado às outras técnicas de extração, uma vez que não existia uma forma fácil de liberação de água, que atua como transportadora de compostos.



Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura de matrizes de *Senecio brasiliensis* antes e depois das extrações: (A) antes da extração (matéria-prima fresca); (B) EAU; (C) ELP; (D) Folha de MHG. (1); (2) flor; (3) caule.



#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa revelam que a planta *Senecio brasiliensis* possui alcaloides pirrolizidínicos em sua constituição. Por se tratar do primeiro relato a utilizar EAU, ELP e MHG para obtenção de extratos ricos em integerrimina, pode-se concluir que as técnicas foram eficientes, sendo consideradas rápidas e ecologicamente corretas. As técnicas de EAU e de ELP foram preferidas, pois possibilitaram maiores rendimentos e maior número de compostos extraídos. Além dos compostos da pirrolizidina, muitos outros foram encontrados, o que incentiva novos estudos quanto à atividade biológica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barrales FM, Silveira P, Barbosa P de PM, et al (2018) Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids — An application to orange peel. *Food Bioprod Process* 112:9–21.
- Barretto D, Vootla S (2018) Gc-MS Analysis of Bioactive Compounds and Antimicrobial Activity of *Cryptococcus rajasthanensis* Ky627764 Isolated From Bombyx Mori Gut Microflora. *Int J Adv Res* 6:525–538.
- Benmoussa H, Elfalleh W, He S, et al (2018) Microwave hydrodiffusion and gravity for rapid extraction of essential oil from *Tunisian cumin* (*Cuminum cyminum* L.) seeds: Optimization by response surface methodology. *Ind Crops Prod* 124:633–642.
- Bousbia N, Abert M, Ferhat MA, et al (2009) Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves : Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chem* 114:355–362.
- Bülent Köse Y, Iscan G, Demirci B (2016) Antimicrobial Activity of the Essential Oils Obtained from Flowering Aerial Parts of *Centaurea lycopifolia* Boiss. et Kotschy and *Centaurea cheirolopha* (Fenzl) Wagenitz from Turkey. *J Essent Oil-Bearing Plants* 19:762–768.
- Carabias-Martínez R, Rodríguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P, Hernández-Méndez J (2005) Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *J Chromatogr A* 1089:1–17.
- Castejón N, Luna P, Señorans FJ (2017) Ultrasonic removal of mucilage for pressurized liquid extraction of omega-3 rich oil from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *J Agric Food Chem* 65:2572–2579.
- Casuga FP, Castillo AL, Corpuz MJAT (2016) GC–MS analysis of bioactive compounds present in different extracts of an endemic plant *Broussonetia luzonica* (Blanco) (Moraceae) leaves. *Asian Pac J Trop Biomed* 6:957–961.
- Chemat F, Rombaut N, Meullemiestre A, et al (2017) Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innov Food Sci Emerg Technol* 41:357–377.
- Chemat F, Zill-e-Huma, Khan MK (2011) Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason Sonochem* 18:813–35.
- Chen M, Du Y, Zhu G, et al (2018) Action of six pyrethrins purified from the botanical insecticide pyrethrum on cockroach sodium channels expressed in *Xenopus oocytes*. *Pestic Biochem Physiol* 151:82–89.
- Cheong MW, Tan AAA, Liu SQ, et al (2013) Pressurised liquid extraction of volatile compounds in coffee bean. *Talanta* 115:300–307.
- Chhouk K, Wahyudiono, Kanda H, Goto M (2018) Efficacy of supercritical carbon dioxide integrated hydrothermal extraction of Khmer medicinal plants with potential pharmaceutical activity. *J Environ Chem Eng* 6:2944–2956.
- Confortin TC, Todero I, Canabarro NI, et al (2019) Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of compounds from different aerial parts of *Senecio brasiliensis*: Mathematical modeling and effects of parameters on extract quality. *J Supercrit Fluids* 153:.
- Cui Q, Wang LT, Liu JZ, et al (2017) Rapid extraction of Amomum tsao-ko essential oil and determination of its chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *J*

Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci 1061–1062:364–371.

Das PR, Eun JB (2018) A comparative study of ultra-sonication and agitation extraction techniques on bioactive metabolites of green tea extract. *Food Chem* 253:22–29.

De Souza RR, Bretanha LC, Dalmarco EM, et al (2015) Modulatory effect of *Senecio brasiliensis* (Spreng) Less. in a murine model of inflammation induced by carrageenan into the pleural cavity. *J Ethnopharmacol* 168:373–379.

Elias F, Latorre AO, Pípole F, et al (2011) Haematological and immunological effects of repeated dose exposure of rats to integerrimine N-oxide from *Senecio brasiliensis*. *Food Chem Toxicol* 49:2313–2319.

Farias CAA, Moraes DP, Lazzaretti M, et al (2021) Microwave hydrodiffusion and gravity as pretreatment for grape dehydration with simultaneous obtaining of high phenolic grape extract. *Food Chem* 337:127723.

Ferreira DF, Lucas BN, Voss M, et al (2020) Solvent-free simultaneous extraction of volatile and non-volatile antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *Ind Crops Prod* 145:112094.

Filly A, Fernandez X, Minuti M, et al (2014) Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: From laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chem* 150:193–198.

Foo LW, Salleh E, Nur S, Mamat H (2015) P-53:Extraction and Qualitative Analysis of Piper Betle Leaves for Antimicrobial Activities. *Int J Eng Technol Sci Res* 2:1–8

Gallo M, Formato A, Ianniello D, et al (2017) Supercritical fluid extraction of pyrethrins from pyrethrum flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) compared to traditional maceration and cyclic pressurization extraction. *J Supercrit Fluids* 119:104–112.

Goltz C, Ávila S, Barbieri JB, et al (2018) Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Macela (*Achyrocline satureioides*) extracts. *J Supercrit Fluids* 115:253–262.

González CP ére., Vega RS erran., González-Chávez M, et al (2013) Anti-inflammatory activity and composition of *Senecio salignus* Kunth. *Biomed Res Int* 2013:814693.

Guo Y, Ma Z, Kou H, et al (2013) Synergistic effects of pyrrolizidine alkaloids and lipopolysaccharide on preterm delivery and intrauterine fetal death in mice. *Toxicol Lett* 221:212–218.

Hirondart M, Rombaut N, Fabiano-Tixier AS, et al (2020) Comparison between pressurized liquid extraction and conventional Soxhlet extraction for rosemary antioxidants, yield, composition, and environmental footprint. *Foods* 9:.

Hossain MB, Barry-Ryan C, Martin-Diana AB, Brunton NP (2011) Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chem* 126:339–346.

Kaczyński P, Łozowicka B (2020) A novel approach for fast and simple determination pyrrolizidine alkaloids in herbs by ultrasound-assisted dispersive solid phase extraction method coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 187:113351.

Karam FSC, Soares MP, Haraguchi M, et al (2004) Aspectos epidemiológicos da seneciose na

região sul do Rio Grande do Sul. *Pesqui Vet Bras* 24:191–198

Kopp T, Salzer L, Abdel-Tawab M, Mizaikoff B (2020) Efficient extraction of pyrrolizidine alkaloids from plants by pressurised liquid extraction- A preliminary study. *Planta Med* 86:85–90.

Lee PS, Shin DH, Lee KM, et al (2007) Effects of Guanosine on the Pharmacokinetics of Acriflavine in Rats Following the Administration of a 1:1 Mixture of Acriflavine and Guanosine, a Potential Antitumor Agent. *Arch Pharm Res* 30:372–380.

López-Hortas L, Conde E, Falqué E, Domínguez H (2016) Flowers of *Ulex europaeus* L.- Comparing two extraction techniques (MHG and distillation). *Comptes Rendus Chim* 19:718–725.

Macedo GE, Gomes KK, Rodrigues NR, et al (2017) *Senecio brasiliensis* impairs eclosion rate and induces apoptotic cell death in larvae of *Drosophila melanogaster*. *Comp Biochem Physiol Part - C Toxicol Pharmacol* 198:45–57.

Machado APDF, Pasquel-Reátegui JL, Barbero GF, Martínez J (2015) Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. *Food Res Int* 77:675–683.

Mustafa A, Turner C (2011) Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Anal Chim Acta* 703:8–18.

Pereira DTV, Tarone AG, Cazarin CBB, et al (2019) Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. *J Food Eng* 240:105–113.

Pilati C, Barros CSL (2007) Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em equinos. *Pesqui Vet Bras* 27:287–296

Prat D, Wells A, Hayler J, et al (2015) CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. *Green Chem* 18:288–296.

Ratmanova NK, Andreev IA, Leontiev A V., et al (2020) Strategic approaches to the synthesis of pyrrolizidine and indolizidine alkaloids. *Tetrahedron* 76:131031.

Sallet D, Souza PO, Fischer LT, et al (2019) Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Mortierella isabellina*. *J Food Eng* 242:1–7.

Sandini TM, Udo MSB, Spinosa HDS (2013) *Senecio brasiliensis* e alcaloides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana. *Biotemas* 26:83–92.

Santos KA, Gonçalves JE, Cardozo-Filho L, da Silva EA (2019a) Pressurized liquid and ultrasound-assisted extraction of  $\alpha$ -bisabolol from candeia (*Eremanthus erythropappus*) wood. *Ind Crops Prod* 130:428–435.

Santos KA, Klein EJ, da Silva C, et al (2019b) Extraction of vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) root oil by supercritical CO<sub>2</sub>, pressurized-liquid, and ultrasound-assisted methods and modeling of supercritical extraction kinetics. *J Supercrit Fluids* 150:30–39.

Setyaningsih W, Saputro IE, Palma M, Barroso CG (2016) Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from rice (*Oryza sativa*) grains. *Food Chem* 192:452–459.

Sharayei P, Azarpazhooh E, Zomorodi S, Ramaswamy HS (2019) Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *Lwt* 101:342–350.

Soquetta MB, Terra L de M, Bastos CP (2018) Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CYTA - J Food* 16:400–412.

- Takshak S, Agrawal SB (2019) Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. *J Photochem Photobiol B Biol* 193:51–88.
- Thakur M, Bhattacharya S, Khosla PK, Puri S (2019) Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *J Appl Res Med Aromat Plants* 12:1–12.
- Toma W, Trigo JR, Bensuaski de Paula AC, Monteiro Souza Brito AR (2004) Modulation of gastrin and epidermal growth factor by pyrrolizidine alkaloids obtained from *Senecio brasiliensis* in acute and chronic induced gastric ulcers. *Can J Physiol Pharmacol* 82:319–325.
- Trigo JR, Leal IR, Matzenbacher NI, Lewinsohn TM (2003) Chemotaxonomic value of pyrrolizidine alkaloids in southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae). *Biochem Syst Ecol* 31:1011–1022.
- Trojanowska A, Tsibranska I, Dzhonova D, et al (2019) Ultrasound-assisted extraction of biologically active compounds and their successive concentration by using membrane processes. *Chem Eng Res Des*.
- Viganó J, Brumer IZ, Braga PA de C, et al (2016) Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. *Food Bioprod Process* 100:382–390.
- Viganó J, Martinez J (2016) Trends for the Application of Passion Fruit Industrial By-products: A Review on the Chemical Composition and Extraction Techniques of Phytochemicals. *Food Public Heal* 5:164–173.
- Wei Y qin, Sun M man, Fang H yan (2019) Dienzyme-assisted salting-out extraction of flavonoids from the seeds of *Cuscuta chinensis* Lam. *Ind Crops Prod* 127:232–236.
- Wiedenfeld H, Edgar J (2011) Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants. *Phytochem Rev* 10:137–151.
- Xu J, Wang W, Yang X, et al (2019) Pyrrolizidine alkaloids: An update on their metabolism and hepatotoxicity mechanism. *Liver Res* 3:176–184.
- Yu HB, Ding LF, Wang Z, Shi LX (2013) Study on Extraction of Polyphenol from Grape Peel Microwave-Assisted Activity. *Adv Mater Res* 864–867:520–525.
- Zaibunnisa AH, Norashikin S, Mamot S, Osman H (2009) An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using pressurised liquid extraction (PLE). *LWT - Food Sci Technol* 42:233–238.
- Zakaria M Bin, Vijayasekaran, Ilham Z, Muhamad NA (2014) Anti-inflammatory Activity of *Calophyllum inophyllum* Fruits Extracts. *Procedia Chem* 13:218–220.
- Zaynab M, Fatima M, Abbas S, et al (2018) Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microb Pathog* 124:198–202.

## CAPÍTULO 6 – ARTIGO 4

Nesta seção estão descritas as metodologias e resultados e discussões para a extração por Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas e Líquido Pressurizado, da parte aérea de *Solanum viarum*.

### **Extração por Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas e Líquido Pressurizado para obtenção de compostos bioativos de *Solanum viarum***

#### **RESUMO**

A biodiversidade brasileira é considerada uma fonte de substâncias bioativas, e uma das espécies encontradas é o *Solanum viarum* Dunal, que é composto principalmente por alcaloides pirrolizidínicos. O tipo de extração a ser usado é uma consideração importante na extração de metabólitos secundários. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar duas diferentes técnicas de extração não convencional, hidrodifusão por micro-ondas e gravidade e extração por líquido pressurizado, na obtenção de compostos bioativos a partir de matrizes vegetais de frutos e raízes de *Solanum viarum*. Diferentes parâmetros foram avaliados, os quais influenciam diretamente no rendimento e na composição química dos extratos. Para extrações por líquido pressurizado, a porcentagem de etanol e temperatura foram avaliadas sobre os rendimentos e composição. Para hidrodifusão por micro-ondas e gravidade, temperatura e pressão foram avaliadas nas mesmas respostas. Ambas as técnicas mostraram eficiência na extração de integerrimina, senecionina e ácido quínico. O líquido pressurizado apresentou maiores rendimentos de extrato e concentração de compostos bioativo.

Palavras-chave: Compostos bioativos, *Solanum viarum*, alcaloides pirrolizidínicos

#### **1. INTRODUÇÃO**

Substâncias bioativas são entendidas como ingredientes ou moléculas funcionais com potencial aplicabilidade, que podem ser encontradas naturalmente em plantas (Abdul Mudalip et al., 2019). Alguns aspectos devem ser levados em consideração ao se trabalhar com compostos bioativos de plantas, incluindo a condição ambiental do habitat onde as espécies crescem (Barman et al., 2018) e a técnica de extração utilizada.

Várias técnicas podem ser utilizadas para a extração de compostos bioativos e estas são divididas em duas categorias: convencionais ou tradicionais e não convencionais. Por muito tempo, as extrações foram realizadas por métodos tradicionais como o Soxhlet e maceração, mas devido a algumas desvantagens, o desenvolvimento e a utilização de novos métodos

surgiram (Ilyas et al., 2021). Tecnologias não convencionais como a hidrodifusão e gravidade por micro-ondas (MHG) e a extração com líquido pressurizado (ELP) mostraram vantagens como menor toxicidade, alta eficiência e tempo de extração reduzido quando comparadas a técnicas como Soxhlet e maceração (Ali et al., 2021)

A família Solanaceae é composta por um grande número de plantas, uma delas é o *Solanum viarum* Dunal, que possui frutos verdes. Porém após a maturação torna-se amarela e a presença de espinhos é característica desta planta (Patel et al., 2021). São relatados derivados de soalsodina, ácido quínico, citidina, ácido cafeoilquínico (CQA), 5H-1-pirindina e ácido fenólico (Confortin et al., 2019; Kausar & Singh, 2018). Os autores relataram a toxicidade da fruta *Solanum viarum* principalmente para bovinos e associam esse fato a compostos encontrados como a soalsodina, que é um glicoalcaloide altamente tóxico (Al et al., 2016; Braguini et al., 2018).

Com base nos aspectos acima mencionados, na importância de tais compostos bioativos, e considerando uma futura aplicabilidade agrícola dos extratos obtidos, surgiu o interesse na pesquisa de extração de compostos desta espécie vegetal com duas diferentes técnicas não convencionais. Assim, o rendimento e a composição química dos extratos foram avaliados por meio de ELP e MHG. Existem poucos estudos sobre o rendimento de extração e a composição química envolvendo os frutos e raízes de *Solanum viarum*, e até o momento não foram encontradas referências usando MHG e ELP como técnicas de extração.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Preparação de amostras**

Os frutos e raízes de *Solanum viarum* foram coletados no sul do Brasil (S: 27°55'39,43/W: 52°7'37,14). As amostras foram secas (40°C) até massa constante e refrigeradas (-4°C) até as extrações.

### **2.2 Técnicas de extração**

A extração com líquido pressurizado (ELP) e a extração por hidrodifusão e gravidade por micro-ondas (MHG) foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Confortin et al. (2021).

Para os procedimentos de extração, foram utilizadas aproximadamente 10 g da amostra. Nas extrações com LP as temperaturas utilizadas nos ensaios foram de 30, 45 e 60°C e as porcentagens de etanol foram de 70, 85 e 100% (v/v). A pressão foi mantida constante a 10 MPa. As vazões do solvente foram de 3,0, 2,8 e 2,7 mL/min para etanol a 100, 85 e 70%, respectivamente, a fim de manter constante a vazão mássica do solvente (2,4 g/min) e o tempo de extração foi de 30 minutos.

Nas extrações com MHG à pressão atmosférica sob 400 W de potência por 20 min. Foram avaliadas extrações embebendo a matriz apenas em água e em uma mistura de solução hidroalcoólica (60ml etanol e 40ml de água).

### **2.3 Caracterização de amostras**

A composição química e a análise por microscopia eletrônica de varredura foram determinadas de acordo com os procedimentos descritos por Confortin et al. (2021). A temperatura do injetor foi mantida a 320°C. Um volume de 1 µL de cada amostra foi injetado com uma razão de separação de 1:40. O programa de temperatura do forno utilizado foi de 5°C.min<sup>-1</sup> de 80°C a 300°C (espera de 15 min). A temperatura da interface foi mantida a 320°C e a temperatura da fonte de íons a 260°C. Os espectros de massa foram registados ao longo de 35-500 amu, a 3,33 scan/s, com energia de ionização de 70 eV.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 Rendimentos de extração**

#### **3.1.1 Extrações Etanólicas**

O ELP é amplamente utilizado para extrair compostos vegetais por ser uma metodologia rápida, eficiente e econômica (Sánchez-Camargo et al., 2016). Esta técnica que utiliza solventes sempre abaixo de seus pontos críticos, mantendo assim a fase líquida dos solventes ao longo do processo de extração e em altas temperaturas (Lama-Muñoz et al., 2019), apresentou rendimento superiores quando comparados ao MHG.

Os rendimentos das matrizes estudadas são apresentados na Tabela 1. Para ambas as matrizes de *Solanum viarum* o comportamento foi semelhante. Quando uma mistura hidroalcoólica e temperaturas mais elevadas foram usadas, os rendimentos aumentaram consideravelmente. Os maiores rendimentos foram obtidos na condição de 60°C e 70% de



etanol (ensaio 3), enquanto os menores rendimentos foram obtidos na condição com menor temperatura (30°C) e maior percentual de etanol (100%). Notavelmente, os rendimentos usando líquidos pressurizados foram maiores em comparação aos rendimentos usando a MHG.

Tabela 1 - Rendimentos de extratos de matrizes fruto e raiz de *Solanum viarum* obtidas por ELP.

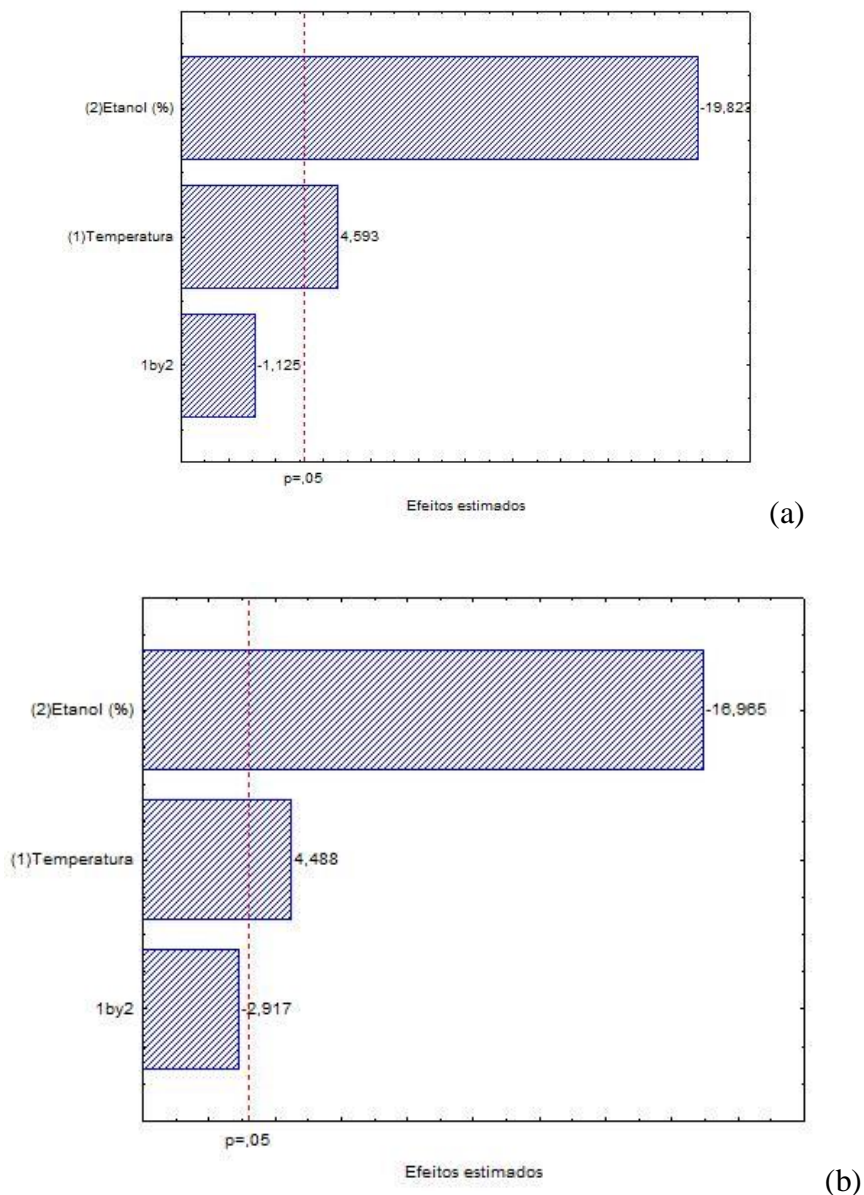
Ensaio	Temperatura (°C)	Etanol (%)	Rendimento (% em massa)	
			Fruto	Raiz
1	(-1) 30	(-1) 70	20,29	7,92
2	(-1) 30	(+1) 100	1,26	1,66
3	(+1) 60	(-1) 70	26,11	11,22
4	(+1) 60	(+1) 100	4,79	2,36
5	(0) 45	(0) 85	14,74	5,33
6	(0) 45	(0) 85	14,52	5,02
7	(0) 45	(0) 85	13,74	5,36

Os termos linear, quadrático e de interação das variáveis estudadas sobre as respostas foram calculados a partir da tabela 1 e os efeitos foram expressos como gráfico de Pareto (Figura 1). Os efeitos lineares da porcentagem de etanol e da temperatura foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) para as duas matrizes de *Solanum viarum*. A porcentagem de etanol apresentou efeito negativo. Isso significa que quanto maior a porcentagem de etanol no solvente, menor o rendimento. A temperatura apresentou um efeito positivo, cujo aumento pode aumentar os rendimentos. Comparando os ensaios experimentais 1 e 3 para as duas matrizes, os maiores rendimentos foram obtidos com a temperatura mais alta, enquanto a porcentagem de etanol foi mantida constante. Para todas as porcentagens de etanol investigadas, o aumento na temperatura aumenta os rendimentos.

O aumento da temperatura e a mistura binária de solventes influenciam satisfatoriamente no rendimento de extração quando se trata de líquidos pressurizados (Carabias-Martínez et al., 2005). Os maiores rendimentos globais são alcançados quando a taxa de transferência de massa aumenta (Machado et al., 2015). Em outras palavras, a tensão superficial e a viscosidade dos solventes diminuem e a difusividade aumenta com o aumento da temperatura, aumentando a capacidade dos solventes de penetrar na matriz e acelerando a

dissolução dos analitos no extrato (Cheong et al., 2013; Hossain et al., 2011; Viganó et al., 2016). Os rendimentos de extração são aumentados com o uso de misturas de solventes, melhorando a solubilidade e aumentando a interação entre o solvente de extração e os componentes alvo (Mustafa e Turner, 2011). Para Lasta et al., (2019) a presença de água nas extrações provoca inchaço das células vegetais, aumentando sua permeabilidade e, assim, facilitando a ruptura da parede celular, consequentemente aumentando os rendimentos. A água, neste contexto, também é importante para ajudar a quebrar as ligações da matriz e soluto-matriz (hidrogênio) (Viganó et al., 2016).

Figura 1. Gráfico de Pareto dos efeitos das variáveis de processo no rendimento de extração de *Solanum viarum* usando ELP para (a) fruto e (b) raiz



Os resultados encontrados neste trabalho são corroborados por Díaz-De-Cerio et al. (2018), em que a maior temperatura e uma mistura de solventes (etanol e água) resultaram na extração máxima de compostos das folhas de murta. Foi estudada a recuperação de compostos fenólicos da casca do maracujá utilizando ELP, cuja temperatura influenciou na produtividade global (Pereira et al. 2021). Santos et al. (2021) relataram aumento no rendimento ao usar temperaturas mais altas e mistura de solventes (80°C / etanol-água). Na extração da amora preta utilizando a ELP, a a condição etanol + água como solvente a 100°C foi selecionada como a melhor condição de rendimento (Machado et al. 2015).

### 3.1.2 Extração Hidrodifusão e gravidade de Micro-ondas (MHG)

A extração por MHG impulsionou a extração assistida por micro-ondas ainda mais para um processo inovador, rápido e ecológico (Benmoussa et al., 2018). Essa técnica, que combina o aquecimento por micro-ondas e gravidade terrestre à pressão atmosférica, foi originalmente projetada para óleos essenciais, mas posteriormente se estendeu à extração de outros compostos presentes em matrizes vegetais (Ferreira et al., 2020; Singh Chouhan et al., 2020).

Apenas diferentes solventes para umidificação de plantas foram avaliados para extração de MHG. A potência de saída foi de 450 W e o tempo foi de 15 min, o que foi suficiente para a extração completa. Os rendimentos obtidos para a umidificação das plantas com a solução hidroalcoólica e com água foram muito semelhantes. No entanto, a solução hidroalcoólica apresentou ligeiro aumento nos resultados. A matriz que apresentou os maiores rendimentos foi o fruto com 1,68% (base mássica), enquanto a raiz resultou nos menores rendimentos com 0,11% (base mássica) (Tabela 2).

Tabela 2 - Rendimentos de matrizes fruto e raiz de *Solanum viarum* obtidas por extração de MHG.

Ensaio	Potência de micro-ondas (W)	Solvente	Rendimento (% em massa)	
			Raiz	Fruto
1	450	Água	0,11	1,37
2	450	Solução hidroalcoólica	0,15	1,68

Comparando os resultados desta técnica com o ELP, obtiveram-se rendimentos mais baixos para ambas as matrizes. Não há relatos na literatura utilizando esta técnica para esta

planta, mas quando comparada à extração com dióxido de carbono supercrítico, os rendimentos de frutos foram maiores e de raízes semelhantes, mas com tempo de extração reduzido (Confortin et al., 2019). Ao comparar com a extração das folhas de *Rosmarinus officinalis*, onde o rendimento foi de 0,33% com condições de 1000 W e 15 min (Bousbia et al., 2009), os resultados encontrados para a matriz dos frutos foram superiores. Vian et al. (2008) utilizando uma potência máxima de 1000 W em um tempo de 15 min, obtiveram os maiores rendimentos de 0,6% para a hortelã e 0,95% para o poejo. A extração do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* nas mesmas condições utilizadas neste trabalho (potência de 400 W e 20 min), resultou em um rendimento de 2,32% (Ferreira et al. 2020).

Os baixos rendimentos podem ser explicados pelo uso excessivo da potência de irradiação de micro-ondas. Um tempo menos foi utilizado e essas condições não foram suficientes para recuperar completamente o extrato de *Solanum viarum*. Devido ao maior poder de irradiação, a pirólise de alguns componentes voláteis pode ocorrer causando uma diminuição no rendimento (Cui et al., 2017). Para melhorar o rendimento da extração, as melhores condições de extração devem ser investigadas em estudos futuros. Considerando a importância da técnica utilizada, sugere-se a utilização de MHG em combinação com tecnologias extrativas sequencias para melhorar os rendimentos, pois os extratos obtidos podem ser adequados para aplicações em uma ampla gama de campos, com o objetivo principal de obtenção de novos produtos por meio de processos verdes.

### 3.2 Composição química por GC-MS

Os compostos identificados em cada técnica de extração estão representados nas Tabelas 3 e 4. Ambas as técnicas foram eficientes para a extração de compostos bioativos relatados na literatura. A ELP mostrou-se mais eficiente por extrair um maior número de compostos (29), enquanto a extração MHG extraiu um número menor (7). A matriz raiz permitiu recuperar doze compostos diferentes com ELP e cinco com MHG; enquanto a matriz fruto permitiu recuperar onze compostos diferentes com ELP e sete com MHG.

O solvente usado para as extrações de compostos determina qual composto será extraído. No caso das extrações utilizadas neste estudo, o etanol tem a capacidade de dissolver compostos moderadamente polares, enquanto a água pode dissolver compostos com alta polaridade. Quando uma mistura binária é utilizada, o comportamento é positivo em termos da quantidade de compostos extraídos (Barrales et. al., 2018). A composição dos extratos obtidos também muda com a temperatura, pois quando elevada causa um aumento na solubilidade (Zaibunnisa et al., 2009), quebrando as ligações analito-matriz e estimulando a difusão do

analito na superfície da matriz (Hossain et al., 2011). Essas afirmações estão de acordo com os achados deste trabalho, visto que nas extrações com ELP a condição a 60°C e com etanol 70% para ambas as matrizes extraíram maior quantidade de compostos, e para MHG ao usar a solução hidroalcoólica os resultados foram promissores.

Os resultados da extração de compostos bioativos da casca do maracujá por Viganó et al. (2016) corroboram com este trabalho. Os autores obtiveram melhores resultados nas condições de 60°C e etanol 70%. Pereira et al. (2019) também obtiveram melhores resultados na recuperação de compostos fenólicos em uma mistura de solventes (50% etanol-água), com temperaturas mais elevadas (100°C); e Herrero et al (2010) utilizando temperaturas mais elevadas e etanol nas extrações das folhas do alecrim, obtiveram o melhor resultado na composição.



Tabela 3 - Compostos químicos obtidos por ELP para o fruto e raiz de *Solanum viarum*.

Ensaio	Área relativa(%)									
	Fruto					Raiz				
	ELP					ELP				
	1	2	3	4	5/6/7	1	2	3	4	5/6/7
<b>Compostos</b>										
2,3-butanediol,	2,36	-	9,65	24,23	23,63					
Dl-glyceraldehyde	9,45	8,16	2,78	4,55	24,79					
5H-1-Pyridine		9,62	5,36	18,23	20,13					
9-octadecenamide	1,05						4,09			
2-Propanone, 1,3-dihydroxy										
Pentadecane								3,06		
Neophytadiene		8,21						3,75		3,97
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-methyl propyl) ester		16,10	6,23	19,36			4,16	3,52		1,48
Benzoic acid, 2-hydroxy, phenylmethyl ester		9,22	5,69				6,94			
Heptadecanoic acid, ethyl ester		8,17				13,09	-	0,64	6,0	
Ethyl linoleate		9,93								
Bicyclo[10.1.0]tridec-1-ene										
Hexadecadienoic acid, methyl ester		18,13	10,36	9,45				8,25		
2-Butanone, 3-hydroxy-										
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester					21,94					
Methane, sulfinylbis							2,89			
N-Methyl-L-prolinol							9,51	6,42		
Quimic ácido	38,33	7,84	10,56	8,26	6,25	23,03	16,52	5,05	23,91	
Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.,24R)	2,15		14,02			12,05	13,72	7,42	7,34	3,84
Spirosol-5-en-3-ol (Soalsodine)	33,36	4,62	16,35	8,56	3,26	14,40	13,12	13,58	19,51	19,53
Cytidine	13,30		13,36	7,36		30,84	21,39	42,78	27,49	31,87

5H-1-pyridine												7,14
Neophytadiene												
Integerrimine			5,64						7,66		6,59	33,64
Methyl commate b												
Ethyl linoleate								6,59				7,07
9,12,15-Octadecatrien-1-ol (CAS)												2,10
9,12-Octadecadien-1-ol (CAS)										2,39		
Cholest-5-ene, 3-bromo-, (3.beta.)-										2,92		

Tabela 4 - Compostos químicos obtidos por hidrodifusão por micro-ondas e extração por gravidade para frutos e raízes de *Solanum viarum*.

Ensaio	Área relativa (%)			
	Fruto		Raiz	
	Água	Água/Etanol	Água	Água/Etanol
<b>Compostos</b>				
2,3-Butanediol	10,03	1,33		
1,3-Butanediol	21,40	1,08	9,95	
5H-1-Pyridine	7,57	9,58		10,01
Spirosol-5-en-3-ol (Soalsodine)	12,43	13,43	5,36	17,54
Cytidine	20,35	40,41	14,38	51,07
Quimic acid	18,40	22,11	8,26	11,15
Integerrimine	9,52	12,06	62,05	10,23



Ambas as técnicas de extração apresentam resultados promissores em relação aos compostos extraídos, tendo como principais compostos o ácido quínico, a citidina e a soalsodina. Esses compostos também foram encontrados nas matrizes dessa planta por Confortin et al. (2019), utilizando como técnica de extração o ultrassom e o CO<sub>2</sub> supercrítico. Esses compostos apresentam atividades importantes relatadas na literatura. O ácido quínico foi relatado com atividades antiinflamatórias e antioxidantes (Lee et al., 2013; Xu et al., 2019; Zeng et al., 2009). Grande-pérez et al., (2017) atribuíram ação antiviral à citidina, que é um composto com núcleo de pirimidina que desempenha um papel vital em atividades biológicas como antifúngica. A citidina também é descrita como um composto responsável pela ação antifúngica contra *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium expansum* e *Penicillium roqueforti* (Pawlowska et al., 2012).

A soalsodina é um composto encontrado na família Solanacea e é descrita como altamente tóxica por muitos autores (Al Sinani et al., 2016; Kausar e Singh, 2018; Patel et al., 2013; Yuan et al., 2017). Este composto também é descrito como um composto principal no extrato da raiz de *Solanum viarum* (Confortin et al., 2019), no entanto, pode ser extraído de diferentes partes vegetativas de plantas de *Solanum viarum*, como folha e caule (Patel et al., 2021). Este composto é relatado soalsodine é relatado como um ótimo inseticida e anti-helmíntico (Khaserao e Somani, 2017; Patel et al., 2013). Anteriormente, a importância do soalsodina na morte de larvas de quinto estágio de *Tribolium confusum* foi enfatizada por Lingampally et al. (2014).

#### **4. Conclusão**

Considerando que este estudo é o primeiro registro da utilização da extração por hidrodifusão por micro-ondas e extração por gravidade (MHG) e extração por líquido pressurizado (ELP) para a extração de compostos de *Solanum viarum*, os resultados obtidos nesta pesquisa são satisfatórios, revelando que a planta possui compostos importantes em sua composição com possível aplicabilidade. A técnica de ELP mostrou-se mais eficiente na obtenção de maiores rendimentos e concentração de compostos químicos. No entanto, a técnica de MHG mostrou-se eficiente na concentração de ácido quínico, citidina e soalsodina nos extratos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul Mudalip, S. K., Khatiman, M. N., Hashim, N. A., Che Man, R., & Arshad, Z. I. M. (2019). A short review on encapsulation of bioactive compounds using different drying techniques. *Materials Today: Proceedings*, 42, 288–296.
- Al, S. S., Eltayeb, E. A., Kamal, Y. T., Khan, M. S., & Ahmad, S. (2016). Variations in the cytotoxic glycoalkaloids solamargine and solasonine in different parts of the *Solanum incanum* plant during its growth and development in Oman. *Integrative Medicine Research*, 10(6), 813–822.
- Al Sinani, S. S., Eltayeb, E. A., Kamal, Y. T., Khan, M. S., & Ahmad, S. (2016). Variations in the cytotoxic glycoalkaloids solamargine and solasonine in different parts of the *Solanum incanum* plant during its growth and development in Oman . *Journal of Taibah University for Science*, 10(6), 813–822.
- Ali, A., Wei, S., Liu, Z., Fan, X., Sun, Q., Xia, Q., Liu, S., Hao, J., & Deng, C. (2021). Non-thermal processing technologies for the recovery of bioactive compounds from marine by-products. *Lwt*, 147(April), 111549.
- Barman, P., Bhat, K. V., & Geeta, R. (2018). Phylogenetic analysis of Indian *Dioscorea* and comparison of secondary metabolite content with sampling across the tree. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(3), 1003–1012.
- Barrales, F. M., Silveira, P., Barbosa, P. de P. M., Ruviano, A. R., Paulino, B. N., Pastore, G. M., Macedo, G. A., & Martinez, J. (2018). Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids — An application to orange peel. *Food and Bioproducts Processing*, 112, 9–21.
- Benmoussa, H., Elfalleh, W., He, S., Romdhane, M., Benhamou, A., & Chawech, R. (2018). Microwave hydrodiffusion and gravity for rapid extraction of essential oil from Tunisian cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds: Optimization by response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 124(May), 633–642.
- Bousbia, N., Abert, M., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves : Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 114(1), 355–362.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., & Hernández-Méndez, J. (2005). Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. *Journal of Chromatography A*, 1089(1–2), 1–17.
- Cheong, M. W., Tan, A. A. A., Liu, S. Q., Curran, P., & Yu, B. (2013). Pressurised liquid extraction of volatile compounds in coffee bean. *Talanta*, 115, 300–307.
- Confortin, T. C., Toderó, I., Luft, L., Teixeira, A. L., Mazutti, M. A., Zabot, G. L., & Tres, M. V. (2019). Valorization of *Solanum viarum* dunal by extracting bioactive compounds from roots and fruits using ultrasound and supercritical CO<sub>2</sub>. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 36(4), 1689–1702.
- Confortin, T.C., Toderó, I., Luft, L., Schmaltz, S., Ferreira, D.F., Barin, J.S., Mazutti, M. A., Zabot, G. L., & Tres, M. V. (2021). Extraction of bioactive compounds from *Senecio brasiliensis* using emergent technologies. *3 Biotech* 11, 284.

- Cui, Q., Wang, L. T., Liu, J. Z., Wang, H. M., Guo, N., Gu, C. B., & Fu, Y. J. (2017). Rapid extraction of *Amomum tsaoko* essential oil and determination of its chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1061–1062(April), 364–371.
- Díaz-De-Cerio, E., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Ferranti, P., Nicoletti, R., Perrotta, G. M., & Gómez-Caravaca, A. M. (2018). Establishment of pressurized-liquid extraction by response surface methodology approach coupled to HPLC-DAD-TOF-MS for the determination of phenolic compounds of myrtle leaves. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3547–3557.
- Ferreira, D. F., Lucas, B. N., Voss, M., Santos, D., Mello, P. A., Wagner, R., Cravotto, G., & Barin, J. S. (2020). Solvent-free simultaneous extraction of volatile and non-volatile antioxidants from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by microwave hydrodiffusion and gravity. *Industrial Crops and Products*, 145(January), 112094.
- Grande-pérez, A., Martín, S., Cuevas, J. M., & Elena, S. F. (2017). putative antiviral role of plant cytidine deaminases [ version 2 ; referees : 2 approved ] Referee Status : 0, 1–14.
- Herrero, M., Plaza, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2010). Green processes for the extraction of bioactives from Rosemary: Chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and in-vitro assays. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2512–2520.
- Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Brunton, N. P. (2011). Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry*, 126(1), 339–346.
- Ilyas, T., Chowdhary, P., Chaurasia, D., Gnansounou, E., Pandey, A., & Chaturvedi, P. (2021). Sustainable green processing of grape pomace for the production of value-added products: An overview. *Environmental Technology and Innovation*, 23, 101592.
- Kausar, M., & Singh, B. K. (2018). Pharmacological Evaluation of *Solanum viarum* Dunal Leaves Extract for Analgesic and Antipyretic Activities. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(4), 356–361.
- Khaserao, S., & Somani, R. (2017). Evaluation of Anti-Obesity Activity of Solasodine in High Fat Diet-Induced Obesity in Rat. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(3), 23.
- Lama-Muñoz, A., del Mar Contreras, M., Espínola, F., Moya, M., de Torres, A., Romero, I., & Castro, E. (2019). Extraction of oleuropein and luteolin-7-O-glucoside from olive leaves: Optimization of technique and operating conditions. *Food Chemistry*, 293(April), 161–168.
- Lasta, H. F. B., Lentz, L., Mezzomo, N., & Ferreira, S. R. S. (2019). Supercritical CO<sub>2</sub> to recover extracts enriched in antioxidant compounds from beetroot aerial parts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19(March), 101169.
- Lee, S. Y., Moon, E., Kim, S. Y., & Lee, K. R. (2013). Quinic acid derivatives from *Pimpinella brachycarpa* exert anti-neuroinflammatory activity in lipopolysaccharide-induced microglia. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(7), 2140–2144.

- Lingampally, V., Solanki, V. R., Anuradha, D. L., & Raja, S. S. (2014). Effect of Solasodine against Last Instar Larvae of *Tribolium confusum*. 2(3), 118–120.
- Luciano Braguini, W., Valendorf Pires, N., & Bianchin Alves, B. (2018). Phytochemical Analysis, Antioxidant Properties and Brine Shrimp Lethality of Unripe Fruits of *Solanum viarum*. *Journal of Young Pharmacists*, 10(2), 159–163.
- Machado, A. P. D. F., Pasquel-Reátegui, J. L., Barbero, G. F., & Martínez, J. (2015). Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. *Food Research International*, 77, 675–683.
- Mustafa, A., & Turner, C. (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, 703(1), 8–18.
- Patel, K., Singh, R. B., & Patel, D. K. (2013). Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of solasodine: A concise report of current scientific literature. *Journal of Acute Disease*, 2(2), 92–98.
- Patel, P., Prasad, A., Gupta, S. C., Niranjana, A., Lehri, A., Singh, S. S., Misra, P., & Chakrabarty, D. (2021). Growth, phytochemical and gene expression changes related to the secondary metabolite synthesis of *Solanum viarum* Dunal. *Industrial Crops and Products*, 166(April), 113464.
- Pawlowska, A. M., Zannini, E., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2012). “Green Preservatives”: Combating Fungi in the Food and Feed Industry by Applying Antifungal Lactic Acid Bacteria. In *Advances in Food and Nutrition Research* (1st ed., Vol. 66). Elsevier Inc.
- Pereira, D. T. V., Tarone, A. G., Cazarin, C. B. B., Barbero, G. F., & Martínez, J. (2019). Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. *Journal of Food Engineering*, 240(February 2018), 105–113.
- Pereira, D. T. V., Zabet, G. L., Reyes, F. G. R., Iglesias, A. H., & Martínez, J. (2021). Integration of pressurized liquids and ultrasound in the extraction of bioactive compounds from passion fruit rinds: Impact on phenolic yield, extraction kinetics and technical-economic evaluation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 67(November 2020).
- Sánchez-Camargo, A. P., Mendiola, J. A., Valdés, A., Castro-Puyana, M., García-Cañas, V., Cifuentes, A., Herrero, M., & Ibáñez, E. (2016). Supercritical antisolvent fractionation of rosemary extracts obtained by pressurized liquid extraction to enhance their antiproliferative activity. *Journal of Supercritical Fluids*, 107, 581–589.
- Santos, P. H., Kammers, J. C., Silva, A. P., Oliveira, J. V., & Hense, H. (2021). Antioxidant and antibacterial compounds from feijoa leaf extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. *Food Chemistry*, 344(November 2020), 128620.
- Singh Chouhan, K. B., Tandey, R., Sen, K. K., Mehta, R., & Mandal, V. (2020). Microwave hydrodiffusion and gravity model with a blend of high and low power microwave firing for improved yield of phenolics and flavonoids from oyster mushroom. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 17(July), 100311.
- Vian, M. A., Fernandez, X., Visinoni, F., & Chemat, F. (2008). Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 1190(1–2), 14–17.
- Viganó, J., Brumer, I. Z., Braga, P. A. de C., da Silva, J. K., Maróstica Júnior, M. R., Reyes Reyes, F. G., & Martínez, J. (2016). Pressurized liquids extraction as an alternative process to

readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds. *Food and Bioproducts Processing*, 100, 382–390.

Viganó, J., & Martínez, J. (2016). Trends for the Application of Passion Fruit Industrial By-products: A Review on the Chemical Composition and Extraction Techniques of Phytochemicals. *Food and Public Health*, 5(5), 164–173.

Xu, J., Wang, W., Yang, X., Xiong, A., Yang, L., & Wang, Z. (2019). Pyrrolizidine alkaloids: An update on their metabolism and hepatotoxicity mechanism. *Liver Research*, 3(3–4), 176–184.

Yuan, B., Byrnes, D., Giurleo, D., Villani, T., Simon, J. E., & Wu, Q. (2017). Science Direct Rapid screening of toxic glycoalkaloids and micronutrients in edible nightshades ( *Solanum* spp .). *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(2), 751–760.

Zaibunnisa, A. H., Norashikin, S., Mamot, S., & Osman, H. (2009). An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using pressurised liquid extraction (PLE). *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 233–238.

Zeng, K., Thompson, K. E., Yates, C. R., & Miller, D. D. (2009). Synthesis and biological evaluation of quinic acid derivatives as anti-inflammatory agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 19(18), 5458–5460.

## CAPÍTULO 7 – ARTIGO 5

Nesta seção estão descritas a metodologia e os resultados e discussões para a avaliação antifúngica e herbicida dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*.

### **Avaliação da atividade antifúngica e herbicida dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum***

#### **RESUMO**

Nos últimos anos, houve um aumento significativo no uso de substâncias ativas encontradas em extratos vegetais devido às suas aplicações nos setores farmacêutico, alimentício e agrícola. Desta forma este trabalho tem como objetivo investigar o potencial herbicida e fungicida de diferentes partes das plantas *Senecio brasiliensis* (flor, folha e caule) e *Solanum viarum* (fruto e raiz). Os extratos foram obtidos por extração com Ultrassom (85 W/cm<sup>2</sup> intensidade e 0.75 de pulso). A atividade fungicida foi testada nos fungos *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum* e a ação herbicida foi testada em pré-emergência de sementes de *Cucumis sativus*. Os testes mostram um grande potencial antifúngico e herbicida. Os efeitos inibitórios contra ambos os fungos testados foram satisfatórios sendo de até 82% e quanto a inibição na germinação de sementes de *Cucumis sativus* foi de 100%.

Palavras-Chaves: Compostos bioativos, *Solanum viarum*, *Senecio brasiliensis*, atividade fúngica, atividade herbicida, *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum*

#### **1. INTRODUÇÃO**

O metabolismo vegetal consiste em um conjunto de reações que ocorrem em cada célula que visam à produção de energia através da adenosina trifosfato e biossíntese de substâncias indispensáveis à sua sobrevivência (Capasso et al., 2011). As plantas sintetizam uma ampla gama de metabólitos secundários (Thakur et al., 2019). O metabolismo secundário vegetal compreende uma variedade de compostos que evoluíram a fim de promover a sobrevivência das plantas fornecendo proteção contra estresses gerais, como fatores ambientais, insetos, herbívoros, predadores, patógenos e radiação ultravioleta (Macedo et al., 2017).

Alguns metabólitos secundários (MS) podem interferir no crescimento e no desenvolvimento de sistemas biológicos, sendo considerados compostos alelopáticos. Estes compostos (aleloquímicos) podem ser usados diretamente para a formulação de defensivos

agrícolas ou até mesmo alterados a fim de melhorar sua ação biológica (Batish et al., 2012; Mahdavi et al., 2017; Sadgrove e Jones, 2015).

Na tentativa de reduzir o uso de pesticidas sintéticos, foram e estão sendo realizadas extensas investigações sobre a possível exploração de compostos vegetais como produtos comerciais naturais, que são seguros para os seres humanos e o meio ambiente. De fato, a busca por compostos naturais e métodos de manejo como alternativas aos pesticidas clássicos tornou-se um campo de pesquisa intenso e produtivo (Amri et al., 2017), pois devido à diversidade estrutural e às atividades biológicas desenvolvidas podem ser usados para o desenvolvimento de pesticidas bioquímicos orgânicos baseados na estrutura das fitotoxinas naturais (Dayan and Duke, 2014). Outros autores relataram essa eficiência (Arasu et al., 2019; Carvalho et al., 2019; El Sawi et al., 2019; Hussain et al., 2017; Kueh et al., 2019; Ma et al., 2019; Zhao et al., 2019).

Entre as espécies relatadas na literatura com compostos de possíveis ação herbicida e fungicida está o *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*, encontradas no Estado do Rio Grande do Sul (Confortin et al., 2019; Confortin et al., 2021). São consideradas plantas daninhas de pastagem e altamente tóxicas, pois quando ingeridas pelo gado ou outros tipos de rebanho pode ser letal (Milner et al., 2011; Panziera et al., 2018). O *Senecio brasiliensis* Less., popularmente conhecida como “Maria mole” (Macedo et al., 2017) e *Solanum viarum* Dunal pertence à família Solanaceae, conhecida popularmente no Brasil como “joá-bravo” (Luciano Braguini et al., 2018), tem sua toxicidade devido ao acúmulo de altos níveis de alcaloides (Elias et al., 2011; Luciano Braguini et al., 2018), porém convém destacar que o *Senecio brasiliensis* também é utilizado na medicina tradicional (Vendruscolo e Mentz, 2006).

Pensando nos efeitos negativos da utilização dos herbicidas e fungicidas no meio ambiente, o crescimento da agricultura orgânica, o controle de plantas daninhas e fungos com métodos alternativos e o provável potencial herbicida e fungicida dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos extratos das diferentes matrizes sob o crescimento micelial *in vitro* de *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum* e a ação herbicida em pré emergência em *Cucumis sativus*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Preparação das amostras

O material vegetal de *Senecio brasiliensis* (flores, folhas e caules) e *Solanun viarum* (frutos e raízes) foram coletados no norte do estado do Rio Grande do Sul (S: 27°55' 39.43/ W: 52°7' 37.14). As amostras foram secas a 40°C até se atingir massa constante e mantidas a -4°C até as extrações.

### 2.2 Obtenção dos extratos

Os extratos foram obtidos de diferentes partes de *Senecio brasiliensis* (flores, folhas e caules) e *Solanun viarum* (frutos e raízes) por extração com Ultrassom. Trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa apresentam a composição dos compostos fitoquímicos extraídos das duas plantas usando a técnica de EAU sob diferentes condições (Confortin et al., 2019; Confortin et al., 2021). Com base nesses resultados, foi selecionado a condição que forneceu os rendimentos elevados e concentração de compostos com ação fungicida e herbicida para cada matriz para extrações para este estudo (85 W/cm<sup>2</sup> da intensidade do ultrassom e 0.75 de ciclo). Um total de cinco amostras foram obtidas a partir das extrações e foram usados para determinar suas bioatividades (Tabela 1).

Tabela 1 – Principais rendimentos e compostos obtidos de *Solanum viarum* e *Senecio brasiliensis* por Extração Assistida por Ultrassom

Parte botânica	Rendimento (%)	Composto com atividade biológica
Fruto	19,15	Salsodine
Raiz	10,2	Cydine Quimic acid Piperazine Mannofuranoside 1,8 Diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ene
Folha	10,68	Integerrimine
Flor	6,52	Senecionine
Caule	5,57	Propanetriol Cinerin Celidoniol Hexadecanoic acid Phenol octadecenoic acid 2-Methoxy-4-vinyl phenol Guanosine 5H-1-pyridinol



### 2.3 Determinação da atividade antifúngica

Para a determinação da atividade antifúngica foram utilizados os extratos obtidos na melhor condição de extração das diferentes matrizes de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* realizadas em trabalho anterior do grupo de pesquisa (85 W/cm<sup>2</sup> da intensidade do ultrassom e 0.75 de pulso) (Confortin et al., 2019; Confortin et al., 2021).

As soluções dos extratos foram preparadas a uma concentração de 100 mg/mL, utilizando como solvente o etanol. Para a solução controle foi utilizado etanol+água destilada na mesma concentração. A ação antifúngica dos extratos foi avaliada sobre o desenvolvimento de dois importantes fitopatógenos: *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum*, cedidos pelo Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria. O meio de cultura utilizado no experimento foi o Ágar Batata Dextrose (BDA), da marca comercial Himedia®, sendo preparado conforme instruções do fabricante.

A atividade antifúngica foi avaliada pelo método de diluição em ágar (Balouiri et al., 2016). Para isso foi preparado o meio BDA, após estar em temperatura ambiente foi acrescentado no meio o extrato a ser testado. As placas de petri foram preenchidas pelo meio BDA+extrato a ser testado. Após a solidificação um disco de micélio de 7mm de diâmetro do microrganismo teste foi transferido de uma cultura pura de sete dias para o centro da placa.

As placas foram incubadas a temperatura de 28°C e em sete dias o diâmetro do crescimento micelial foi observado através de duas medições diametralmente opostas das colônias quando o controle (BDA sem adição do extrato) atingiu o máximo de crescimento. A percentagem de inibição para o crescimento micelial foi determinada utilizando como referência o crescimento de concentração de controle e calculada como relatado por Zabka et al. (2011) :

$$\text{Inibição (\%)} = \left( \frac{DC-DT}{DC} \right) \times 100$$

Onde: DC é o diâmetro da colônia da concentração de controle, e DT é o diâmetro de colônia das diferentes concentrações avaliadas.

O experimento foi desenvolvido com um delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetição. Foram avaliadas cinco matrizes vegetais (fruto e raiz de *Solanum viarum* e folha, flor e fruto de *Senecio brasiliensis*), uma concentração de extrato e dois fungos. A análise dos dados foi realizada utilizando um teste de comparação de médias

utilizando o método Tukey ( $p < 0,05$ ), usando o software Statistica 8.0 (Statsoft Inc., EUA). O nível de significância estatística aplicado foi de 5% de probabilidade.

## 2.4 Atividade bioherbicida - Bioensaios em Pré-emergência

Os bioensaios foram realizados em pré-emergência em *Cucumis sativus*. Os testes foram realizados em placa petri previamente desinfetadas com álcool 70% e forradas com duas folhas de papel filtro (Germitest®) umedecidas com o respectivo tratamento (extrato) correspondendo a um volume de 2,5 vezes o peso do papel, de acordo com as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009). Ressalva-se que os testes de controle foram realizados substituindo o extrato por água destilada. Após foram aplicadas 3 repetições de 10 sementes, totalizando 30 sementes por tratamento e acondicionados em câmara BOD, com temperatura constante (25°C) e fotoperíodo de 12/12 horas de luz/escuro. Posteriormente esses dados foram expressos em percentagem de inibição de germinação ou de plantas anormais (plantas que não tiveram seu crescimento normal) (Brun et al., 2016). A primeira avaliação do número de sementes germinadas foi realizada ao 3º dia após a instalação do experimento, seguida de uma nova avaliação ao 7º dia. Para esse teste, foram contabilizadas como germinadas, as sementes que apresentaram crescimento da radícula superior a 2 mm, segundo descrito na RAS (BRASIL, 2009). A germinação foi calculada por meio da equação:

$$\text{Germinação: G\%: } [\sum ni/A].100$$

Onde: ni é o número de sementes germinadas em cada repetição; A é o total de sementes utilizadas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Atividade antifúngica

A atividade antifúngica dos extratos obtidos por extração com US de *Solanum viarum* e *Senecio brasiliensis* contra *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum* estão apresentadas na Tabela 2. Para os testes *in vitro* pode-se notar que todas as matrizes das duas plantas testadas apresentam uma boa atividade antifúngica contra ambas as espécies de fungos estudadas apresentando-se dentro de uma gama de 58,75% a 75,02% para *Fusarium graminearum* e de 74,27% à 82,01% para *Sclerotinia sclerotiorum*. A análise dos dados foi realizada utilizando um teste de comparação de médias utilizando o método Tukey ( $p < 0,05$ ),

usando o software Statistica 8.0 (Statsoft Inc., EUA). O nível de significância estatística aplicado foi de 5% de probabilidade.

Tabela 2- Inibição do crescimento micelial de *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum* por extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*

Porcentagem de inibição (%)					
<i>Senecio brasiliensis</i>			<i>Solanum viarum</i>		
	Flor	Folha	Caule	Fruto	Raiz
<b><i>Fusarium graminearum</i></b>					
US	60,18±0,14 <sup>bG</sup>	75,02±0,17 <sup>aD</sup>	58,75± <0,001 <sup>cH</sup>	62,0±0,11 <sup>bF</sup>	65,0±0,15 <sup>aE</sup>
<b><i>Sclerotinia sclerotiorum</i></b>					
US	74,27±0,10 <sup>cG</sup>	82,01±0,31 <sup>aD</sup>	77,65±0,24 <sup>bF</sup>	77,05±0,15 <sup>bF</sup>	81,15±0,12 <sup>aE</sup>

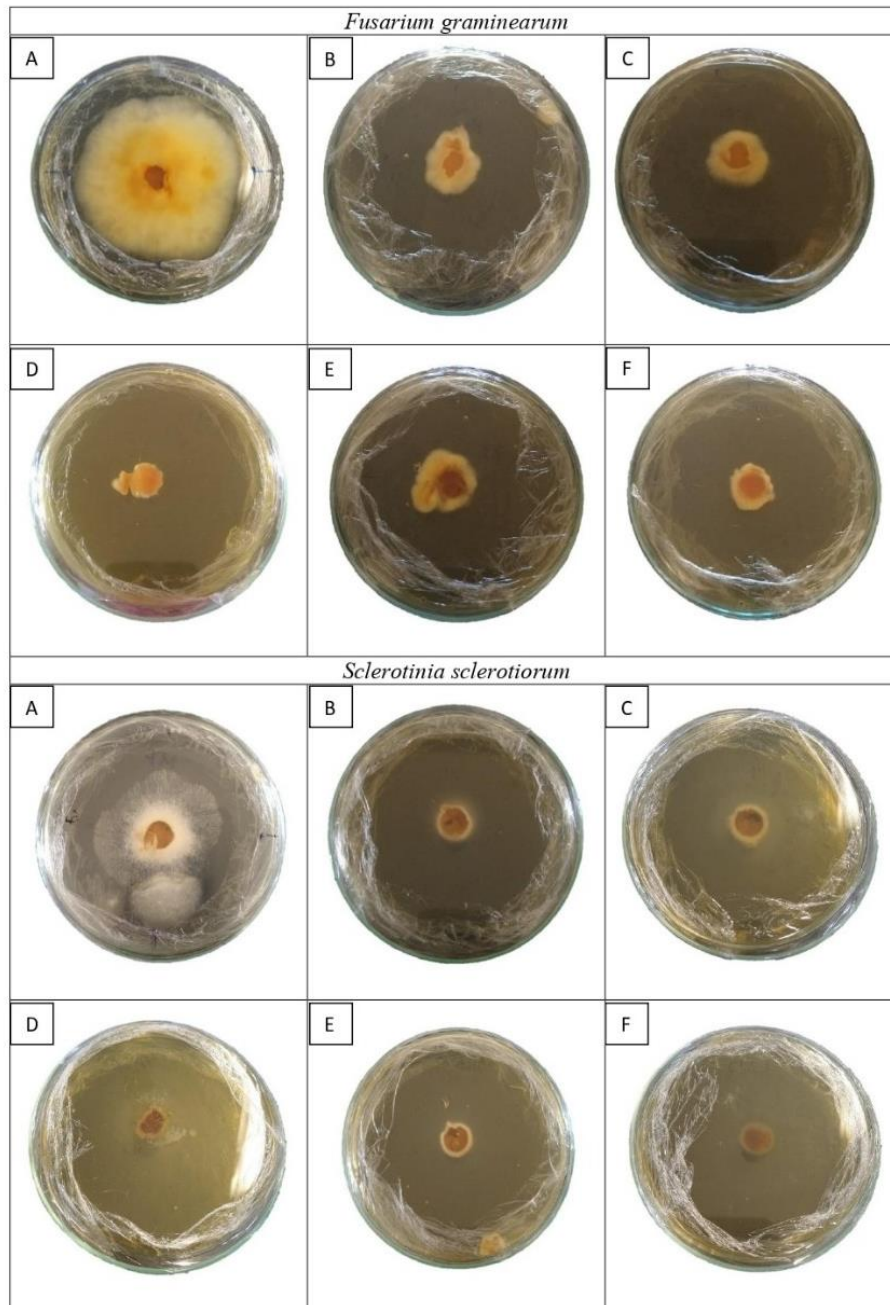
a-c: Diferentes letras na mesma coluna representam uma diferença significativa de 95% ( $p < 0,05$  - Teste Tukey) entre os ensaios para cada espécie e para cada fungo de forma separada.

D-H- Letras diferentes na mesma coluna representam uma diferença significativa a 95% ( $p < 0,05$  - Teste Tukey) entre os ensaios das duas espécies para cada fungo de forma separadamente.

Para o *Senecio brasiliensis* a matriz que apresentou maior destaque foi a folha, com maior porcentagem de inibição para ambos os fungos testados, 75.02% e 82,01% de inibição para *F. graminearum* e *S. sclerotiorum*, respectivamente. Já para o *Solanum viarum* a matriz que apresentou maiores porcentagens de inibição foi a raiz com 65.0% e 81,15% para *F. graminearum* e *S. sclerotiorum*, respectivamente (Figura 1).

Tendências semelhantes foram relatadas por outros autores utilizando extratos de plantas na inibição de crescimento de fungos (Arasu et al., 2019; Koïta et al., 2017; Ma et al., 2019; Pintos et al., 2018; Salem et al., 2019; Sollepura Boregowda et al., 2019; Weisany et al., 2019). Seepe et al. (2020) utilizando extratos de *Combretum erythrophyllum*, *Quercus acutissima* e *Melia azedarach* a uma concentração de 2,5 mg/mL, mostraram que a atividade antifúngica variou de 68% a 98% de inibição contra *F. proliferatum*. Já Hernández-Ceja et al. (2021) obtiveram efeitos inibitórios de 100% ao testar extratos de *Lantana hirta* (na concentração de 5 mg/mL) no crescimento de *P. clavispora* e *C. gloeosporioides* e *A. ochroleuca*, e *A. ochroleuca* contra *P. clavispora* e *C. gloeosporioides*.

Figura 1. Inibição após 7 dias de *F. graminearum* e *S. sclerotiorum* por extratos das matrizes de de *Senecio brasiliensis* e *Solanun viarum*; A: Controle etanólico; B: extrato do caule de *Senecio brasiliensis*; C: extrato de flor de *Senecio brasiliensis*, D: extrato de folha de *Senecio brasiliensis*, E: extrato de fruto de *Solanun viarum*, F: extrato da raiz de *Solanun viarum*



Ressalva-se que os fungos testados nesta pesquisa causam grande impacto na agricultura. Giberela é uma das principais doenças fúngicas em diversas culturas de grãos causada por *Fusarium graminearum* (Rocheleau et al., 2019). O método de controle mais utilizado é a utilização de fungicidas sintéticos como o carbendazim que além de ser altamente tóxico, também está apresentando resistência ao fungo em questão (Shao et al., 2021). *Sclerotinia*

*sclerotiorum* causadora do mofo branco em uma ampla gama de hospedeiros (Bolton et al., 2006), ataca principalmente culturas importantes, como feijão, soja e vegetais (Willbur et al., 2018). Alves et al. (2021) destaca a importância de um controle biológico para o gerenciamento deste fungo, uma vez que já existem cultivares resistentes. Compostos identificados nos extratos testados nessa pesquisa descrito por Confortin et al. (2019 e 2021) descrevem o possível potencial antifúngico. A citidina é descrita como a responsável pela atividade antifúngica em *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum* (Pawlowska et al., 2012). Walters et al. (2004) relataram que o ácido octadecenoico é um agente antifúngico contra *Crinipellis perniciosa* e *Pythium ultimum*. Manofuranosídeo (Hugar e Londonkar, 2017), Propanetriol (Casuga et al., 2016; Foo et al., 2015), Octadecano (Abu backer e Devi, 2015), Farnesol (Pauli, 2006; Piochon et al., 2009; Santos et al., 2019), Ácido 2-propenoico (Fraga et al., 2017), Derivados de pirano - Piretroides (Chattapadhyay e Dureja, 2006) também apresentam relatos com atividade antifúngica.

Porém deve-se levar em consideração que os mecanismos de ação pelos quais os produtos botânicos atuam ainda precisam ser mais explorados. O fato dos extratos conterem uma mistura de compostos bioativos e assim sua atividade alelopática pode ser atribuída muitas vezes não apenas a um composto mas a vários compostos que atuam em sinergia (Bakkali et al., 2008; Pitarokili et al., 2003).

### **3.2 Atividade herbicida em pré emergência**

Na Tabela 3 são apresentados os resultados do teste de germinação das diferentes matrizes em sementes de *Cucumis sativus*, as quais são consideradas plantas indicadoras de atividade alelopática (Chaves Neto et al., 2020; Todero et al., 2018). Os resultados encontrados foram promissores uma vez que se observou um efeito bioherbicida significativo para todas as matrizes com 100% de inibição de germinação, não havendo diferença significativa entre as matrizes (Figura 2).

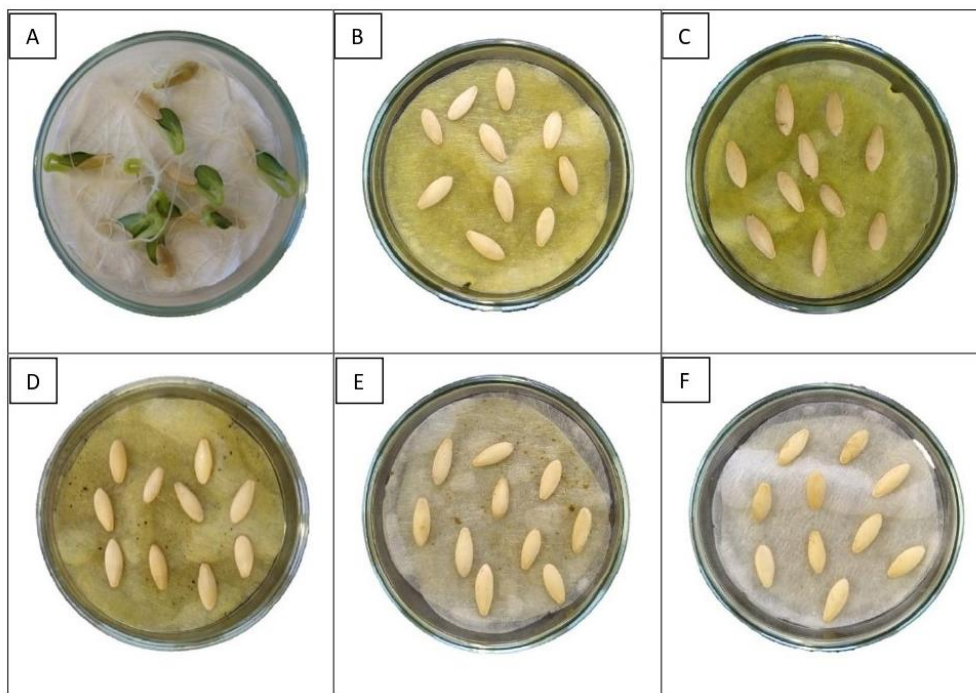
Tabela 3- Inibição de germinação de sementes de *Cucumis sativus* por extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*

Percentagem de inibição (%)					
<i>Senecio brasiliensis</i>			<i>Solanum viarum</i>		
	Flor	Folha	Caule	Fruto	Raiz
<i>Cucumis sativus</i>					
US	100	100	100	100	100

Até o presente momento, nenhum estudo ainda foi publicado testando os efeitos em pré emergência dos extratos de *Solanum viarum* e *Senecio brasiliensis*, porém muitos autores demonstraram que o efeito fitotóxico de extratos vegetais em germinação de sementes (Carvalho et al., 2019; Gulzar and Siddiqui, 2017; Hussain et al., 2017; Kueh et al., 2019; Zhao et al., 2019). Scavo et al. (2018) ao testar extratos aquosos de folhas de *Cynara cardunculus* L. na germinação de sementes obtiveram inibição de 80 e 40%. Scavo et al. (2020) testaram extratos de *S. media* e *A. arvensis* que inibiram a germinação em 100% de *Amaranthus retroflexus* e *Portulaca oleracea*. Kaab et al. (2020) ao testar extratos das plantas *C. cardunculus* e *A. herbaalba* (5 g/L) um efeito fitotóxico foi verificado no crescimento de mudas de *S. marianum*, variando entre 80,87 e 100,00%.

Os resultados encontrados nesta pesquisa indicam claramente que os extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* têm um alto efeito alelopático na germinação de sementes. Esses resultados podem estar relacionados a compostos como 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene, 2-Propenoic acid que já são descritos com efeito herbicida na literatura (Cao et al., 2011; Fraga et al., 2017). A interação sinérgica ou antagônica dos compostos também foi identificada por Confortin et al. (2019 e 2021) e também devem ser levado em consideração pois apresentam bioatividades: soalsodina é descrita com alta toxicidade (Kausar e Singh, 2018; Patel et al., 2013; Yuan et al., 2017), Quimic acid também é reportado com potencial antiinflamatório (Foo et al., 2015; Wang and Weller, 2006), Celidoniol com potencial antibactericida (Bülent Köse et al., 2016) (Bülent Köse et al., 2016), anti-inflamatório (Zakaria et al., 2014), pesticida (M. Chen et al., 2018; Gallo et al., 2017)(Q. Chen et al., 2018; Gallo et al., 2017), integerrimina e a senecionina que são compostos considerados alcaloides pirrolizidínicos (De Souza et al., 2015; Elias et al., 2011; Toma et al., 2004; Trigo et al., 2003).

Figura 2. Inibição da germinação após 7 dias de aplicação dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanun viarum* em sementes de *Cucumis sativus*. A: Controle etanólico+água; B: extrato do caule de *Senecio brasiliensis*; C: extrato de flor de *Senecio brasiliensis*, D: extrato de folha de *Senecio brasiliensis*, E: extrato de fruto de *Solanun viarum*, F: extrato da raiz de *Solanun viarum*



O modo de ação dos aleloquímicos, incluindo os compostos alcaloides destacados neste estudo, ainda permanecem um tanto desconhecidos. Esses metabólitos secundários são absorvidos pelas sementes das plantas, o que inicia danos à membrana celular, DNA, mitose, atividade da amilase e outros processos bioquímicos e atrasa ou inibe a germinação das sementes (Radhakrishnan et al., 2018). Ressalva-se que este trabalho demonstra pela primeira vez a ação fungicida e herbicida de extratos a partir de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*. Com isso sugere-se que mais estudos devem ser realizados avaliando diferentes concentrações, toxicidade para a saúde humana e meio ambiente e purificação dos compostos para confirmem suas atividades.

#### 4. CONCLUSÃO

Extratos obtidos de diferentes matrizes de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* por extração com US apresentaram atividades antifúngica e herbicida. Em relação à atividade antifúngica, os extratos das folhas das duas espécies estudadas forneceram os melhores resultados para os dois fungos testados com 75,02% e 82,01% de inibições contra *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum*, respectivamente. Em relação a inibição da germinação de sementes de *Cucumis sativus* todas as matrizes apresentaram uma inibição de 100%. Esses resultados indicam que esses extratos podem ser uma valiosa fonte para ser utilizados como método de controle alternativo para uma agricultura mais biológica e orgânica.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abu backer, M.N., Devi, P.K., 2015. In vitro Antifungal Potentials of Bioactive Compounds Heptadecane, 9- hexyl and Ethyl iso-allocholate isolated from *Lepidagathis cristata* Willd. (Acanthaceae) leaf. Br. Biomed. Bull.
- Alves, N.M., Guimarães, R.A., Guimarães, S.S.C., Faria, A.F., Santos, Í.A.F.M., de Medeiros, F.H.V., Jank, L., Cardoso, P.G., 2021. A Trojan horse approach for white mold biocontrol: *Paraconiothyrium* endophytes promotes grass growth and inhibits *Sclerotinia sclerotiorum*. Biol. Control 160, 104685. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104685>
- Amri, I., Hanana, M., Jamoussi, B., Hamrouni, L., 2017. Essential oils of *Pinus nigra* J.F. Arnold subsp. laricio Maire: Chemical composition and study of their herbicidal potential. Arab. J. Chem. 10, S3877–S3882. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.05.026>
- Arasu, M.V., Viayaraghavan, P., Ilavenil, S., Al-Dhabi, N.A., Choi, K.C., 2019. Essential oil of four medicinal plants and protective properties in plum fruits against the spoilage bacteria and fungi. Ind. Crops Prod. 133, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.018>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food Chem. Toxicol. 46, 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibsouda, S.K., 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review \$. J. Pharm. Anal. 6, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Batish, D.R., Singh, H.P., Kaur, M., Kohli, R.K., Singh, S., 2012. Chemical characterization and phytotoxicity of volatile essential oil from leaves of *Anisomeles indica* (Lamiaceae). Biochem. Syst. Ecol. 41, 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.12.017>
- Bolton, M.D., Thomma, B.P.H.J., Nelson, B.D., 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: Biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Mol. Plant Pathol. 7, 1–16. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x>



- Brun, T., Rabuske, J.E., Todero, I., Almeida, T.C., Junior, J.J.D., Ariotti, G., Confortin, T., Arnemann, J.A., Kuhn, R.C., Guedes, J.V.C., Mazutti, M.A., 2016. Production of bioherbicide by *Phoma* sp. in a stirred-tank bioreactor. 3 Biotech 6. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0557-9>
- Bülent Köse, Y., Iscan, G., Demirci, B., 2016. Antimicrobial Activity of the Essential Oils Obtained from Flowering Aerial Parts of *Centaurea lycopifolia* Boiss. et Kotschy and *Centaurea cheirolopha* (Fenzl) Wagenitz from Turkey. J. Essent. Oil-Bearing Plants 19, 762–768. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2016.1174080>
- Cao, G., Wang, Mei-yi, Wang, Ming-zhong, Wang, S., Li, Y., Li, Z., 2011. Synthesis and Herbicidal Activity of Novel Sulfonylurea Derivatives. Chem. Res. Chinese Univ. 27, 60–65. <https://doi.org/10.1021/jf9042166>
- Carvalho, M.S.S., Andrade-Vieira, L.F., Santos, F.E. dos, Correa, F.F., das Graças Cardoso, M., Vilela, L.R., 2019. Allelopathic potential and phytochemical screening of ethanolic extracts from five species of *Amaranthus* spp. in the plant model *Lactuca sativa*. Sci. Hortic. (Amsterdam). 245, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.001>
- Casuga, F.P., Castillo, A.L., Corpuz, M.J.A.T., 2016. GC–MS analysis of bioactive compounds present in different extracts of an endemic plant *Broussonetia luzonica* (Blanco) (Moraceae) leaves. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 6, 957–961. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.08.015>
- Chattapadhyay, T.K., Dureja, P., 2006. Antifungal activity of 4-methyl-6-alkyl-2H-pyran-2-ones. J. Agric. Food Chem. 54, 2129–2133. <https://doi.org/10.1021/jf052792s>
- Chaves Neto, J.R., Luft, L., Confortin, T.C., Todero, I., Mazutti, M.A., Zabet, G.L., Tres, M.V., 2020. Efeito de metabólitos secundários produzidos por *Phoma dimorpha* sobre a germinação e crescimento de sementes de diferentes espécies vegetais. Acta Iguazu 9, 109–121. <https://doi.org/10.48075/actaiguaz.v9i2.23466>
- Chen, M., Du, Y., Zhu, G., Takamatsu, G., Ihara, M., Matsuda, K., Zhorov, B.S., Dong, K., 2018. Action of six pyrethrins purified from the botanical insecticide pyrethrum on cockroach sodium channels expressed in *Xenopus* oocytes. Pestic. Biochem. Physiol. 151, 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.05.002>
- Chen, Q., Song, J., Bi, J., Meng, X., Wu, X., 2018. Characterization of volatile profile from ten different varieties of Chinese jujubes by HS-SPME/GC–MS coupled with E-nose. Food Res. Int. 105, 605–615. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.054>
- Dayan, F.E., Duke, S.O., 2014. Natural Compounds as Next-Generation Herbicides. Plant Physiol. 166, 1090–1105. <https://doi.org/10.1104/pp.114.239061>
- De Souza, R.R., Bretanha, L.C., Dalmarco, E.M., Pizzolatti, M.G., Fröde, T.S., 2015. Modulatory effect of *Senecio brasiliensis* (Spreng) Less. in a murine model of inflammation

induced by carrageenan into the pleural cavity. *J. Ethnopharmacol.* 168, 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.03.032>

El Sawi, S.A., Ibrahim, M.E., El-Rokiek, K.G., El-Din, S.A.S., 2019. Allelopathic potential of essential oils isolated from peels of three citrus species. *Ann. Agric. Sci.* 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2019.04.003>

Elias, F., Latorre, A.O., Pípole, F., Haraguchi, M., Górniak, S.L., Hueza, I.M., 2011. Haematological and immunological effects of repeated dose exposure of rats to integerrimine N-oxide from *Senecio brasiliensis*. *Food Chem. Toxicol.* 49, 2313–2319. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.032>

Foo, L.W., Salleh, E., Nur, S., Mamat, H., 2015. P-53: Extraction and Qualitative Analysis of Piper Betle Leaves for Antimicrobial Activities. *Int. J. Eng. Technol. Sci. Res.* 2, 1–8.

Fraga, B.M., González-Coloma, A., Alegre-Gómez, S., López-Rodríguez, M., Amador, L.J., Díaz, C.E., 2017. Bioactive constituents from transformed root cultures of *Nepeta teydea*. *Phytochemistry* 133, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.10.008>

Gallo, M., Formato, A., Ianniello, D., Andolfi, A., Conte, E., Ciaravolo, M., Varchetta, V., Naviglio, D., 2017. Supercritical fluid extraction of pyrethrins from pyrethrum flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) compared to traditional maceration and cyclic pressurization extraction. *J. Supercrit. Fluids* 119, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.09.012>

Grande-pérez, A., Martín, S., Cuevas, J.M., Elena, S.F., 2017. putative antiviral role of plant cytidine deaminases [version 2; referees: 2 approved] Referee Status: 1–14. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11111.1>

Gulzar, A., Siddiqui, M.B., 2017. Allelopathic effect of *Calotropis procera* (Ait.) R. Br. on growth and antioxidant activity of *Brassica oleracea* var. botrytis. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 16, 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.12.003>

Hernández-Ceja, A., Loeza-Lara, P.D., Espinosa-García, F.J., García-Rodríguez, Y.M., Medina-Medrano, J.R., Gutiérrez-Hernández, G.F., Ceja-Torres, L.F., 2021. In vitro antifungal activity of plant extracts on pathogenic fungi of blueberry (*Vaccinium* sp.). *Plants* 10, 1–12. <https://doi.org/10.3390/plants10050852>

Hugar, A.L., Londonkar, R.L., 2017. GC-MS profiling of bioactive components from aqueous extract of *Pterocarpus marsupium* 10, 557–564.

Hussain, I., Singh, N.B., Singh, A., Singh, H., 2017. Allelopathic potential of sesame plant leachate against *Cyperus rotundus* L. *Ann. Agrar. Sci.* 15, 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2016.10.003>

Kaab, S.B., Rebey, I.B., Hanafi, M., Hammi, K.M., Smaoui, A., Fauconnier, M.L., De Clerck, C., Jijakli, M.H., Ksouri, R., 2020. Screening of Tunisian plant extracts for herbicidal activity and formulation of a bioherbicide based on *Cynara cardunculus*. *South African J. Bot.* 128, 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.018>

- Kausar, M., Singh, B.K., 2018. Pharmacological Evaluation of *Solanum viarum* Dunal Leaves Extract for Analgesic and Antipyretic Activities. *J. Drug Deliv. Ther.* 8, 356–361. <https://doi.org/10.22270/jddt.v8i4.1812>
- Koita, K., Zagre, B.M.B., Sankara, P., 2017. Aqueous plant extracts for control of groundnut leaf spot in burkina faso Groundnut (*Arachis hypogaea* L.) is the sixth most important oilseed crop in the world. Among the fungal diseases of groundnut, leaf spot (early and late leaf spots) is a major 25, 311–319.
- Kueh, B.W. Bin, Yusup, S., Osman, N., Ramli, N.H., 2019. Analysis of Melaleuca cajuputi extract as the potential herbicides for paddy weeds. *Sustain. Chem. Pharm.* 11, 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2018.12.004>
- Luciano Braguini, W., Valendorf Pires, N., Bianchin Alves, B., 2018. Phytochemical Analysis, Antioxidant Properties and Brine Shrimp Lethality of Unripe Fruits of *Solanum viarum*. *J. Young Pharm.* 10, 159–163. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.10.36>
- Ma, Y.N., Xu, F.R., Chen, C.J., Li, Q.Q., Wang, M.Z., Cheng, Y.X., Dong, X., 2019. The beneficial use of essential oils from buds and fruit of *Syzygium aromaticum* to combat pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. *Ind. Crops Prod.* 133, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.029>
- Macedo, G.E., Gomes, K.K., Rodrigues, N.R., Martins, I.K., Wallau, G. da L., Carvalho, N.R. de, Cruz, L.C. da, Costa Silva, D.G. da, Boligon, A.A., Franco, J.L., Posser, T., 2017. *Senecio brasiliensis* impairs eclosion rate and induces apoptotic cell death in larvae of *Drosophila melanogaster*. *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* 198, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2017.05.004>
- Mahdavia, F., Saharkhiz, M.J., Karami, A., 2017. Defensive response of radish seedlings to the oxidative stress arising from phenolic compounds in the extract of peppermint (*Mentha×piperita* L.). *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 214, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.029>
- Milner, S.E., Brunton, N.P., Jones, P.W., O'Brien, N.M., Collins, S.G., Maguire, A.R., 2011. Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from solanum species. *J. Agric. Food Chem.* 59, 3454–3484. <https://doi.org/10.1021/jf200439q>
- Panziera, W., Pavarini, S.P., Sonne, L., Barros, C.S.L., Driemeier, D., 2018. Poisoning of cattle by *Senecio* spp. In Brazil: A review. *Pesqui. Vet. Bras.* 38, 1459–1470. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5795>
- Patel, K., Singh, R.B., Patel, D.K., 2013. Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of solasodine: A concise report of current scientific literature. *J. Acute Dis.* 2, 92–98. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(13\)60106-7](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(13)60106-7)

- Pauli, A., 2006.  $\alpha$ -Bisabolol from Chamomile – A specific ergosterol biosynthesis inhibitor 21–25. <https://doi.org/10.1002/med.20050>
- Pintos, B., Martín-Calvarro, L., Piñón, D., Esteban, A., Tello, M.L., Pérez-Urria, E., Gómez-Garay, A., 2018. Antifungal effects of phenolic extract from industrial residues of *Aloe vera*. Spanish J. Agric. Res. 16, e1010. <https://doi.org/10.5424/sjar/2018164-12480>
- Piochon, M., Legault, J., Gauthier, C., Pichette, A., 2009. Phytochemistry Synthesis and cytotoxicity evaluation of natural  $\alpha$ -bisabolol  $\beta$ -D-fucopyranoside and analogues. Phytochemistry 70, 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.11.013>
- Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A., Harvala, C., 2003. Volatile metabolites from *Salvia fruticosa* as antifungal agents in soilborne pathogens. J. Agric. Food Chem. 51, 3294–3301. <https://doi.org/10.1021/jf0211534>
- Radhakrishnan, R., Alqarawi, A.A., Abd Allah, E.F., 2018. Bioherbicides: Current knowledge on weed control mechanism. Ecotoxicol. Environ. Saf. 158, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.018>
- Rocheleau, H., Al-harhi, R., Ouellet, T., 2019. Degradation of salicylic acid by *Fusarium graminearum*. Fungal Biol. 123, 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.11.002>
- Sadgrove, N., Jones, G., 2015. A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. Agriculture 5, 48–102. <https://doi.org/10.3390/agriculture5010048>
- Salem, M.Z.M., Behiry, S.I., EL-Hefny, M., 2019. Inhibition of *Fusarium culmorum*, *Penicillium chrysogenum* and *Rhizoctonia solani* by n-hexane extracts of three plant species as a wood-treated oil fungicide. J. Appl. Microbiol. 126, 1683–1699. <https://doi.org/10.1111/jam.14256>
- Santos, K.A., Klein, E.J., da Silva, C., da Silva, E.A., Cardozo-Filho, L., 2019. Extraction of vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) root oil by supercritical CO<sub>2</sub>, pressurized-liquid, and ultrasound-assisted methods and modeling of supercritical extraction kinetics. J. Supercrit. Fluids 150, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.04.005>
- Scavo, A., Pandino, G., Restuccia, A., Mauromicale, G., 2020. Leaf extracts of cultivated cardoon as potential bioherbicide. Sci. Hortic. (Amsterdam). 261, 109024. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109024>
- Scavo, A., Restuccia, A., Pandino, G., Onofri, A., Mauromicale, G., 2018. Allelopathic effects of *Cynara cardunculus* L. Leaf aqueous extracts on seed germination of some mediterranean weed species. Ital. J. Agron. 13, 119–125. <https://doi.org/10.4081/ija.2018.1021>
- Seepe, H.A., Lodama, K.E., Sutherland, R., Nxumalo, W., Amoo, S.O., 2020. In vivo antifungal activity of south african medicinal plant extracts against fusarium pathogens and their phytotoxicity evaluation. Plants 9, 1–21. <https://doi.org/10.3390/plants9121668>

- Shao, J., Pei, Z., Jing, H., Wang, L., Jiang, Chengyu, Du, X., Jiang, Chao, Lou, Z., Wang, H., 2021. Antifungal activity of myriocin against *Fusarium graminearum* and its inhibitory effect on deoxynivalenol production in wheat grains. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 114, 101635. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101635>
- Sollepura Boregowda, R., Murali, N., C. Udayashankar, A., R. Niranjana, S., S. Lund, O., S. Prakash, H., 2019. Antifungal Activity of *Eclipta alba* Metabolites against Sorghum Pathogens. *Plants* 8, 72. <https://doi.org/10.3390/plants8030072>
- Thakur, M., Bhattacharya, S., Khosla, P.K., Puri, S., 2019. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 12, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.11.004>
- Todero, I., Confortin, T.C., Luft, L., Brun, T., Ugalde, G.A., Castro, T., Almeida, D., Arnemann, J.A., Zobot, G.L., Mazutti, M.A., 2018. Scientia Horticulturae Formulation of a bioherbicide with metabolites from *Phoma* sp . *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 241, 285–292. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.07.009>
- Toma, W., Trigo, J.R., Bensuski de Paula, A.C., Monteiro Souza Brito, A.R., 2004. Modulation of gastrin and epidermal growth factor by pyrrolizidine alkaloids obtained from *Senecio brasiliensis* in acute and chronic induced gastric ulcers . *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 82, 319–325. <https://doi.org/10.1139/y04-023>
- Trigo, J.R., Leal, I.R., Matzenbacher, N.I., Lewinsohn, T.M., 2003. Chemotaxonomic value of pyrrolizidine alkaloids in southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 31, 1011–1022. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(03\)00038-3](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(03)00038-3)
- Vendruscolo, G.S., Mentz, L.A., 2006. Ethnobotanical survey of the medicinal plants used by the community of Ponta Grossa neighborhood, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Iheringia - Ser. Bot.* 61, 83–103.
- Walters, D., Raynor, L., Mitchell, A., Walker, R., Walker, K., 2004. Antifungal activities of four fatty acids against Plant Pathogenic fungi. *Mycopathologia* 157, 87–90. <https://doi.org/10.1023/B:MYCO.0000012222.68156.2c>
- Wang, L., Weller, C.L., 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci. Technol.* 17, 300–312. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>
- Weisany, W., Samadi, S., Amini, J., Hossaini, S., Yousefi, S., Maggi, F., 2019. Enhancement of the antifungal activity of thyme and dill essential oils against *Colletotrichum nymphaeae* by nano-encapsulation with copper NPs. *Ind. Crops Prod.* 132, 213–225. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.031>
- Willbur, J.F., Fall, M.L., Bloomingdale, C., Byrne, A.M., Chapman, S.A., Isard, S.A., Magarey, R.D., McCaghey, M.M., Mueller, B.D., Russo, J.M., Schlegel, J., Chilvers, M.I., Mueller, D.S.,

Kabbage, M., Smith, D.L., 2018. Weather-based models for assessing the risk of sclerotinia sclerotiorum apothecial presence in soybean (*Glycine max*) fields. *Plant Dis.* 102, 73–84. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0504-RE>

Yuan, B., Byrnes, D., Giurleo, D., Villani, T., Simon, J.E., Wu, Q., 2017. ScienceDirect Rapid screening of toxic glycoalkaloids and micronutrients in edible nightshades *Solanum* spp. *J. Food Drug Anal.* 26, 751–760. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.10.005>

Zabka, M., Pavela, R., Gabrielova-Slezakova, L., 2011. Promising antifungal effect of some Euro-Asiatic plants against dangerous pathogenic and toxinogenic fungi. *J. Sci. Food Agric.* 91, 492–497. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4211>

Zakaria, M. Bin, Vijayasekaran, Ilham, Z., Muhamad, N.A., 2014. Anti-inflammatory Activity of *Calophyllum inophyllum* Fruits Extracts. *Procedia Chem.* 13, 218–220. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.12.031>

Zhao, W., Zheng, Z., Zhang, J.L., Roger, S.F., Luo, X.Z., 2019. Allelopathically inhibitory effects of eucalyptus extracts on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Chemosphere* 225, 424–433. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.070>

## CAPÍTULO 8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

### 8.1 DISCUSSÃO GERAL

Nos últimos anos, houve um aumento significativo no uso de substâncias ativas encontradas em extratos vegetais devido às suas aplicações nos setores farmacêutico, alimentar e agrícola. Diversas plantas são utilizadas de forma empírica por agricultores familiares para controle de plantas daninhas e fungos em suas propriedades em busca de controle biológico. Neste contexto estão incluídas duas plantas: *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*. Considerando a importância de desmostrar cientificamente esse potencial e entender melhor a composição química dessas plantas, esse trabalho se mostrou de suma importância, uma vez que não havia na literatura informações sobre rendimentos de extração e aplicação destas plantas no controle biológico.

Devido ao crescente interesse nos compostos encontrados em plantas, extratos de melhor qualidade, sem degradação térmica de componentes desejados e processos ambientalmente corretos, estudos com novas tecnologias que oferecem soluções para essas demandas têm se intensificado. Assim esse trabalho utilizou técnicas descritas como tecnologias verdes para realizar as extrações de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* para posteriormente caracterizar os compostos químicos presentes nestas plantas.

Os principais resultados obtidos neste trabalho demonstram que todas as técnicas de extração foram eficientes para o *Senecio brasiliensis* e para o *Solanum viarum*. Utilizando a EFS – CO<sub>2</sub> para *Senecio brasiliensis*, os maiores rendimentos foram obtidos para folhas (1,76% em massa; 60°C/25 MPa), flores (1,56% em massa; 40°C/25 MPa) e caules (0,25% em massa; 60°C/25 MPa) e foram encontrados no sob condições de temperatura e pressão mais altas (60°C/25 MPa), com maiores densidades, já os menores rendimentos foram encontrados nas condições de maior temperatura e menor pressão (60°C/15 MPa), ou seja, com menores densidades de solvente. Avaliando estatisticamente a pressão foi significativa no processo, apresentando um efeito positivo nos rendimentos, uma vez que o aumento da pressão na mesma temperatura favoreceu um maior rendimento.

Utilizando a EAU os rendimentos máximos foram de 7,14% para a flor, de 11,82% para a folha e de 5,69% para o caule, sendo que os maiores rendimentos foram maiores

utilizando um alto valor de intensidade de potência (75,11 W/cm<sup>2</sup>) e ciclo (0,93), enquanto os menores rendimentos foram obtidos no ensaio 5 com a menor intensidade de potência (17 W/cm<sup>2</sup>) e ciclo (0,75).

A extração com LP foi a técnica que apresentou maiores rendimentos quando comparada com as outras técnicas. A condição de 60°C e etanol a 70% v/v foi o que resultou nos maiores rendimentos, enquanto os menores rendimentos foram obtidos nos ensaios com menor temperatura (30°C) e maior quantidade de etanol (100% v/v). A temperatura apresentou um efeito positivo, o que significa que um aumento nesta variável leva a maiores rendimentos. Pode-se observar que os maiores rendimentos foram obtidos com a maior temperatura, enquanto a porcentagem de etanol foi mantida constante, ou seja, o aumento da temperatura leva a maiores rendimentos para todas as porcentagens de etanol estudadas. Por outro lado, o percentual de etanol apresentou efeito negativo, o que significa que quanto maior o percentual de etanol no solvente, menor o rendimento. Quanto à influência da porcentagem de etanol, o maior rendimento de extração foi encontrado com etanol a 70% v/v.

A técnica Extração Hidrodifusão e Gravidade de Micro-ondas apresentou os menores resultados quanto ao rendimento quando comparado as outras três técnicas, porém foram semelhantes ao encontrado na EFS-CO<sub>2</sub>, com rendimentos máximos encontrados na flor com 0,68%, seguida das folhas com 0,64% e por fim o caule com 0,26%, não mostrando diferenças significativas quando utilizado solventes diferentes.

Quanto a composição química os resultados obtidos nesta pesquisa revelam que a planta *Senecio brasiliensis* possui alcaloides pirrolizidínicos em sua constituição. Por se tratar do primeiro relato a utilizar EFS-CO<sub>2</sub>, EAU, ELP e MHG para obtenção de extratos ricos em integerrimina, pode-se concluir que as técnicas foram eficientes, sendo consideradas rápidas e ecologicamente corretas. Destaca-se a extração com US onde os resultados mostraram que a integerrimina era o composto principal, representando aproximadamente 50% da área total do pico. Convém ressaltar que outros compostos com potenciais biológicos também foram extraídos como já descrito anteriormente.

Os resultados encontrados para a planta *Solanum viarum* demonstram comportamento muito semelhante ao *Senecio brasiliensis* quanto as condições. Para a técnica EFS os maiores rendimentos (0,69 ± 0,001% em massa de frutos e 0,37 ± 0,001% em massa de raízes) foram obtidos na menor temperatura e na maior pressão (40°C/250 bar), enquanto os menores rendimentos (0,40 ± 0,002% em massa de frutos e 0,12 ± 0,001% em massa de raízes) foram obtidos no ensaio de temperatura mais alta e pressão mais baixos (60°C/150 bar). O aumento da pressão de 150 para 250 bar resultou em maior rendimento do extrato. Já o aumento da



temperatura de 40 para 60°C causou um menor rendimento. Este efeito é devido à densidade do solvente, pois o aumento da pressão aumenta a densidade do fluido supercrítico. Conseqüentemente, o poder de solvatação do solvente é aumentado. Um aumento na temperatura provoca uma diminuição da densidade e, conseqüentemente, uma diminuição da solubilidade dos extratos no CO<sub>2</sub> (Soares et al., 2016; Goyeneche et al., 2018).

A técnica de US apresentou rendimentos superiores às técnicas de EFS-CO<sub>2</sub>, com os maiores rendimentos de extração de 20,8% em massa para frutos e de 11,7% em peso para raízes. As duas matrizes demonstraram comportamentos muito semelhantes, tendo os maiores rendimentos com alta intensidade (75,11 W/cm<sup>2</sup>) e um ciclo de pulso de 0,93. O menor rendimento foi obtido no ensaio com menor intensidade e ciclo de pulso.

Para a extração utilizando o LP os maiores rendimentos foram obtidos na condição a 60°C e 70% de etanol, enquanto os menores rendimentos foram obtidos na condição com menor temperatura (30°C) e maior percentual de etanol (100%). Os rendimentos usando líquidos pressurizados foram maiores em comparação aos rendimentos usando os EAU, EFS-CO<sub>2</sub> e HMG. Ressalva-se que o aumento da temperatura e a mistura binária de solventes influenciaram satisfatoriamente no rendimento da extração quando se trata de líquidos pressurizados (Carabias-Martínez et al., 2005). Os maiores rendimentos globais são alcançados quando a taxa de transferência de massa aumenta (Machado et al., 2015).

Utilizando a extração MHG a solução hidroalcoólica apresentou ligeiro aumento nos resultados. A matriz que apresentou os maiores rendimentos foi o fruto com 1,68%, enquanto a raiz resultou nos menores rendimentos com 0,11%. Esta técnica quando comparada com o ELP, obtiveram-se rendimentos mais baixos para ambas as matrizes, já quando comparada à extração com dióxido de carbono supercrítico, os rendimentos foram semelhantes, mas com tempo de extração reduzido.

Convém ressaltar que a extração MHG impulsionou a extração assistida por micro-ondas ainda mais para um processo inovador, rápido e ecológico (Benmoussa et al., 2018). Essa técnica, que combina aquecimento por micro-ondas e gravidade à pressão atmosférica, foi originalmente projetada para óleos essenciais, mas posteriormente se estendeu à extração de outros compostos presentes em matrizes vegetais (Ferreira et al., 2020; Singh Chouhan et al., 2020).

Os extratos obtidos dos frutos e raízes de *Solanum viarum* contêm diferentes constituintes fitoquímicos. A maioria deles são conhecidos por serem compostos

biologicamente ativos e são responsáveis por exibir várias atividades como descrito anteriormente. Ambas as técnicas de extração apresentam bons resultados tendo como principais compostos o ácido quínico, a citidina e a soalsodina. O US mostrou-se mais eficiente por extrair um maior número de compostos (46), quando comparado com LP (29), EFS-CO<sub>2</sub> (20) e MHG (7). Ressalva-se que o solvente usado para as extrações dos compostos determina qual composto será extraído. No caso das extrações em questão, o etanol tem a capacidade de dissolver compostos moderadamente polares, enquanto compostos de água com alta polaridade, portanto, quando é feita uma mistura binária, o comportamento é positivo em termos da quantidade de compostos extraídos (Barrales et. al., 2018). A composição dos extratos obtidos também muda com a temperatura, pois quando é elevada causa um aumento na solubilidade (Zaibunnisa et al., 2009), quebrando as ligações analito-matriz e estimulando a difusão do analito na superfície da matriz (Hossain et al., 2011).

Com base nos resultados encontrados, selecionamos a técnica de US em uma condição que forneceu rendimentos elevados e concentração de compostos principalmente com ação fungicida e herbicida para cada matriz (85 W/cm<sup>2</sup> intensidade e 0.75 de pulso). Ressalva-se que a concentração testada para ambas as matrizes das duas espécies foi de 100 mg/mL. Os resultados encontrados foram promissores uma vez que se observou um efeito bioherbicida significativo para todas as matrizes com 100% de inibição de germinação, não havendo diferença significativa entre as matrizes. Para *S. brasiliensis* a matriz que se apresentou com maior destaque foi a folha, que apresentou maior porcentagem de inibição para ambos os fungos testados, 75,02% e 82,01% de inibição para *F. graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum*, respectivamente. Já para *Solanum viarum* a matriz que apresentou maiores porcentagens de inibição foi a raiz com 65,0% e 81,15% para *F. graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum*, respectivamente.

## 8.2 CONCLUSÕES GERAIS

Com os resultados obtidos neste trabalho sobre extração, caracterização de compostos bioativos e aplicação dos extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*, foi possível concluir que:

- Os métodos extrativos se diferenciam entre si nos rendimentos e composição química;
- As técnicas EFS, US, LP e HMG são eficientes para a extração de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*;

- Quando utilizada a técnica de CO<sub>2</sub> supercrítico, diferentes valores de pressão e temperatura testados no planejamento influenciaram nos resultados, apresentando efeito positivo e negativo sobre o rendimento global.
- Na técnica de US a potência de trabalho e o ciclo interferiram nos rendimentos e composição química;
- A técnica US mostrou-se mais eficiente para composição química para as duas plantas utilizadas;
- A técnica LP apresentou melhor desempenho quanto ao rendimento, quando comparada a outras técnicas;
- A técnica HMG foi a que apresentou menores rendimentos, porém quanto aos compostos, apresentou alta eficiência;
- Os extratos das matrizes *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* apresentaram ótimos resultados quanto ao potencial herbicida em pré-emergência;
- Os extratos das matrizes *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* apresentaram eficiência na inibição de crescimento contra *Fusarium graminearum* e *Sclerotinia sclerotiorum*;
- Os extratos das matrizes *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* são uma fonte potencial de compostos bioativos que devem ser estudados quanto as atividades potenciais;
- Em geral, os resultados proporcionaram contribuição relevante para a recuperação de compostos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum*;
- Finalmente pode-se concluir que as extrações utilizando tecnologias verdes podem ser uma excelente alternativa em relação aos métodos convencionais de extração. Os extratos de *Senecio brasiliensis* e *Solanum viarum* apresentaram resultados promissores para um herbicida e fungicida botânico que pode ser útil no controle de plantas daninhas e fungos que atingem pequenos agricultores familiares que visam um controle biológico.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Após o desenvolvimento dos experimentos expostos na Tese e nas conclusões atingidas, a lista a seguir foi elaborada a fim incentivar novas pesquisas no assunto:

- Otimizar os testes fúngicos testando diferentes dosagens de aplicação dos extratos;

- Aprofundar os testes em diferentes fungos;
- Realizar testes de toxicidade;
- Realizar teste em pré e pós emergência em diferentes plantas daninhas;
- Determinar os efeitos dos extratos em pós-emergência, avaliando pigmentos fotossintéticos, integridade da membrana (vazamento eletrolítico) e peroxidação lipídica;
- Verificar a atividade repelente dos extratos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, K. A. et al. A review on supercritical fluid extraction as new analytical method. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 345–353, 2008.

ADAM, F.; ABERT-VIAN, M.; PELTIER, G.; CHEMAT, F. “Solvent-free” ultrasound assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: a green, clean and scalable process. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 457–465, 2012.

ALAM, S. B. et al. Antifungal activity of essential oils of three aromatic plants from western Algeria against five fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 87, p. 56-61, 2014.

ALBUQUERQUE, B. R. et al. Catechin-based extract optimization obtained from *Arbutus unedo* L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 404–415, 2017.

ALIPOUR, M. et al. Phytotoxicity of encapsulated essential oil of rosemary on germination and morphophysiological features of amaranth and radish seedlings. **Scientia Horticulturae**, v. 243, n. July 2018, p. 131–139, 2019.

AMRI, I. et al. Phytotoxic Effects of Essential Oils and Their Individual Components : News Approach for Weeds Management. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 4, n. 1, p. 96–114, 2013.

AMRI, I. et al. Essential oils of *Pinus nigra* J.F. Arnold subsp. *laricio* Maire: Chemical composition and study of their herbicidal potential. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S3877–S3882, 2017.

ANARAT-CAPPILLINO, G.; SATTELY, E. S. The chemical logic of plant natural product biosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 19, p. 51-58, 2014.

ANESE, S. et al. Bioherbicidal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* Miers roots. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 28–35, 2015.

Aniszewski. T. The biological basis of quinolizidine alkaloids, **Sci. Legumes**, 1 (1994), pp. 1-24

ARASU, M. V. et al. Essential oil of four medicinal plants and protective properties in plum fruits against the spoilage bacteria and fungi. **Industrial Crops and Products**, v. 133, p. 54–62, 2019.

AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BAKR, E. M. A new software for measuring leaf area , and area damaged by *Tetranychus urticae* Koch. **Blackwell Verlag**, v. 129, n. 3, p. 173–175, 2005.
- BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71–79, 2016.
- BARBOSA, H. M. A. et al. Optimization of the supercritical fluid coextraction of oil and diterpenes from spent coffee grounds using experimental design and response surface methodology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 165–172, 2014.
- BARRALES, F. M. et al. Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids — An application to orange peel. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, p. 9–21, 2018.
- BARRETTO, D.; VOOTLA, S. Gc-MS Analysis of Bioactive Compounds and Antimicrobial Activity of *Cryptococcus rajasthanensis* Ky627764 Isolated From *Bombyx Mori* Gut Microflora. **International Journal of Advanced Research**, v. 6, n. 3, p. 525–538, 2018.
- BARROS, H. D. F. Q. et al. Simultaneous extraction of edible oil from avocado and capsaicin from red bell pepper using supercritical carbon dioxide as solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 315–320, 2016.
- BASKAR, K. Bioefficacy of the triterpenoid friedelin against *Helicoverpa armigera* ( Hub .) and *Spodoptera litura* ( Fab .) ( Lepidoptera : Noctuidae ), 2014.
- BATISH, D. R. et al. Chemical characterization and phytotoxicity of volatile essential oil from leaves of *Anisomeles indica* (Lamiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 104–109, 2012.
- BENELLI, G. et al. Insecticidal activity of the essential oil and polar extracts from *Ocimum gratissimum* grown in Ivory Coast: Efficacy on insect pests and vectors and impact on non-target species. **Industrial Crops and Products**, v. 132, n. February, p. 377–385, 2019.
- BENMOUSSA, H. et al. Microwave hydrodiffusion and gravity for rapid extraction of essential oil from *Tunisian cumin* (*Cuminum cyminum* L.) seeds: Optimization by response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 124, n. May, p. 633–642, 2018.
- BESSIRE, M. et al. A permeable cuticle in *Arabidopsis* leads to a strong resistance to *Botrytis cinerea*. **EMBO Journal**, v. 26, n. 8, p. 2158–2168, 2007.
- BINELLO, A. et al. Effect of microwaves on the in situ hydrodistillation of four different Lamiaceae. **Comptes Rendus Chimie**, v. 17, n. 3, p. 181–186, 2014.
- BORGES, J. C. M. et al. Mosquitocidal and repellent potential of formulations containing wood residue extracts of a Neotropical plant, *Tabebuia heptaphylla*. **Industrial Crops and Products**, v. 129, p. 424–433, 2019.
- BOREGOWDA, R. et al. Antifungal Activity of *Eclipta alba* Metabolites against *Sorghum Pathogens*. **Plants**, v. 8, n. 3, p. 72, 2019.
- BOUSBIA, N. et al. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. **Food Chemistry**, v. 114,

n. 1, p. 355–362, 2009.

BOZAN, B.; Temelli F. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of flaxseed. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 79, p. 231-235, 2002.

BRAGUINI, W.; VALENDOLF PIRES, N.; BIANCHIN ALVES, B. Phytochemical Analysis, Antioxidant Properties and Brine Shrimp Lethality of Unripe Fruits of *Solanum viarum*. **Journal of Young Pharmacists**, v. 10, n. 2, p. 159–163, 2018.

BRAHMACHARI, G.; GORAI, D. Progress in the Research on Naturally Occurring Flavones and Flavonols: An Overview. **Current Organic Chemistry**, v. 10, n. 8, p. 873–898, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Defesa Agropecuária**. – Brasília: Mapa/ACS, 399 p. 2009.

BRIGHENTI, A. M. et al. Comunicado Técnico. p. 1–11, 2017.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: Technology and application to food processing. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 1–2, p. 21–33, 2005.

BUBALO, M. et al. Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. **Food Chemistry**, v. 200, p. 159–166, 2016.

BUNDHOO, Z. M. A.; MOHEE, R. Ultrasound-assisted biological conversion of biomass and waste materials to biofuels: A review. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 40, n. Pt A, p. 298–313, 2018.

CABEZA, L. F. et al. Supercritical CO<sub>2</sub> as heat transfer fluid: A review. **Applied Thermal Engineering**, v. 125, p. 799–810, 2017.

CAI, X. et al. Insecticidal and Acetylcholinesterase Inhibition Activity of *Veratrum nigrum* Alkaloidal Extract against the German Cockroach (*Blattella germanica*). **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 12, n. December, p. 414–420, 2019.

CAPASSO, F.; PASQUALE, R.; GRANDOLINI, G. **Farmacognosia: Botanica, chimica e farmacologia delle piante medicinali**. 2.ed. Itália: Springer Science & Business, p. 490, 2011.

CARABIAS-MARTÍNEZ, R. et al. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1089, n. 1–2, p. 1–17, 2005.

CARVALHO, M. S. S. et al. Allelopathic potential and phytochemical screening of ethanolic extracts from five species of *Amaranthus* spp. in the plant model *Lactuca sativa*. **Scientia Horticulturae**, v. 245, n. September 2018, p. 90–98, 2019.

CASUGA, F. P.; CASTILLO, A. L.; CORPUZ, M. J. A. T. GC–MS analysis of bioactive compounds present in different extracts of an endemic plant *Broussonetia luzonica* (Blanco) (Moraceae) leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 11, p. 957–961, 2016.

CHEMAT, F.; Abert-Vian, M.; Visinoni, F. Microwave hydrodiffusion for isolation of natural products. European Patent, EP 1 955 749 A1. **International Patent PCT**, WO 089943 A1. 2008.

CHEMAT, F. et al., Solvent-free extraction of food and natural products. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 157-168, 2015.

CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**,

v. 34, p. 540–560, 2017a.

CHEMAT, F. et al. Review of Green Food Processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 41, n. May, p. 357–377, 2017b.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; CRAVOTTO, G. Green extraction of natural products: Concept and principles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 7, p. 8615–8627, 2012.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–35, 2011.

CHEN, Q. et al. Characterization of volatile profile from ten different varieties of Chinese jujubes by HS-SPME/GC–MS coupled with E-nose. **Food Research International**, v. 105, n. November 2017, p. 605–615, 2018.

CHEONG, M. W. et al. Pressurised liquid extraction of volatile compounds in coffee bean. **Talanta**, v. 115, p. 300–307, 2013.

CHHOUK, K. et al. Efficacy of supercritical carbon dioxide integrated hydrothermal extraction of Khmer medicinal plants with potential pharmaceutical activity. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 2, p. 2944–2956, 2018.

CHI, X. F. et al. Obtaining alantolactone and isoalantolactone from *Inula racemose* Hook.f. by optimized supercritical fluid extraction. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 63–69, 2016.

CHOWHAN, N. et al.  $\beta$ -Pinene inhibited germination and early growth involves membrane peroxidation. **Protoplasma**, v. 250, n. 3, p. 691–700, 2013.

CONFORTIN, T. C. et al. Extraction and composition of extracts obtained from *Lupinus albus* using supercritical carbon dioxide and compressed liquefied petroleum gas. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, n. June, p. 395–403, 2017.

CONFORTIN, T. C. et al. Extracts from *Lupinus albus*: antioxidant power and antifungal activity in vitro against phytopathogenic fungi. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 3330, 2018.

CORBIN, C. et al. Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 26, p. 176–185, 2015.

CSURHES, S. Tropical soda apple (*Solanum viarum*). **Invasive plant risk assessment**, p. 1–13, 2009.

CUDA, J. P. et al. Evaluation of exotic *Solanum* spp. (solanales: solanaceae) in florida as host plants for the leaf beetles *Leptinotarsa defecta* and *L. texana* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Florida Entomologist**, v. 85, n. 4, p. 599–610, 2006.

CUJIC, N. C. et al. Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. **Food Chemistry**, 2016.

DAL PRÁ, V. et al. Extraction of bioactive compounds from palm (*Elaeis guineensis*) pressed fiber using different compressed fluids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 51–56, 2016.

DAS, P. R.; EUN, J. B. A comparative study of ultra-sonication and agitation extraction

techniques on bioactive metabolites of green tea extract. **Food Chemistry**, v. 253, n. July 2017, p. 22–29, 2018.

DAYAN, F. E. Factors modulating the levels of the allelochemical sorgoleone in *Sorghum bicolor*. **Planta**, v. 224, n. 2, p. 339–46, 2006.

DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural Compounds as Next-Generation Herbicides. **Plant Physiology**, v. 166, n. 3, p. 1090–1105, 2014.

DRAZ, I. S. et al. Application of plant extracts as inducers to challenge leaf rust of wheat. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 29, n. 1, p. 4–11, 2019.

EL SAWI, S. A. et al. Allelopathic potential of essential oils isolated from peels of three citrus species. **Annals of Agricultural Sciences**, n. April, p. 0–1, 2019.

ELIAS, F. et al. Haematological and immunological effects of repeated dose exposure of rats to integerrimine N-oxide from *Senecio brasiliensis*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 9, p. 2313–2319, 2011.

ESCLAPEZ, M. D. et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. **Food Engineering Reviews**, v. 3, n. 2, p. 108–120, 2011.

KUŞÇU, A, EROĞLU, S. Applications of Green Extraction of Phytochemicals from Fruit and Vegetables. **Akademik platform**, 2015.

FARHAT, A. et al. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: Kinetic data, extract's global yield and mechanism. **Food Chemistry**, v. 125, n. 1, p. 255–261, 2011.

FERREIRA, S. R. S.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the supercritical fluid extraction of black pepper. **Journal of Food Engineering**. v. 54, n. 0260, p. 263–269, 2002.

FILLY, A. et al. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: From laboratory to pilot and industrial scale. **Food Chemistry**, v. 150, p. 193–198, 2014.

FILOMENO, C. A. et al. Corymbia spp. and Eucalyptus spp. essential oils have insecticidal activity against *Plutella xylostella*. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 374–383, 2017.

FLAMINI, G. et al. Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* L. and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. **Journal of Chromatography A**, v. 1143, p. 36–40, 2007.

FOO, L. W. et al. P-53: Extraction and Qualitative Analysis of Piper Betle Leaves for Antimicrobial Activities. **International Journal of Engineering Technology Science and Research**, v. 2, n. 2, p. 1–8, 2015.

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**, 2019.

GALLO, M. et al. Supercritical fluid extraction of pyrethrins from pyrethrum flowers (*Chrysanthemum cinerariifolium*) compared to traditional maceration and cyclic pressurization extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 104–112, 2017.

GHRBANPOUR, M.; HATAMI, M.; KHAVAZI, K. Role of plant growth promoting rhizobacteria on antioxidant enzyme activities and tropane alkaloid production of *Hyoscyamus niger* under water deficit stress. **Turkish Journal of Biology**, v. 37, n. 3, p. 350–360, 2013.

GOLTZ, C. et al. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Macela (*Achyrocline satureioides*) extracts. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 115, n. 3, p. 253–262,



2018.

GONZÁLEZ, C. P. ÉRE. et al. Anti-inflammatory activity and composition of *Senecio salignus* Kunth. **BioMed research international**, v. 2013, p. 814693, 2013.

GRAÑA, E. et al. Citral Induces Auxin and Ethylene-Mediated Malformations and Arrests Cell Division in Arabidopsis thaliana Roots. **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 2, p. 271–282, 2013.

GUJAR, J. G.; WAGH, S. J.; GAIKAR, V. G. Experimental and modeling studies on microwave-assisted extraction of thymol from seeds of *Trachyspermum ammi* (TA). **Separation and Purification Technology**, v. 70, n. 3, p. 257–264, 2010.

GULZAR, A.; SIDDIQUI, M. B. Allelopathic effect of Calotropis procera (Ait.) R. Br. on growth and antioxidant activity of *Brassica oleracea* var. botrytis. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 4, p. 375–382, 2017.

GUO, Y. et al. Synergistic effects of pyrrolizidine alkaloids and lipopolysaccharide on preterm delivery and intrauterine fetal death in mice. **Toxicology Letters**, v. 221, n. 3, p. 212–218, 2013.

HALIMATUSSAKDIAH, ULIL AMNA, P. W. Preliminary phytochemical analysis and larvicidal activity of edible fern (*Diplazium esculentum* (retz.) Sw.) Extract against *Culex*. v. 18, n. October, p. 141–147, 2018.

HANDA, S. S. An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: **Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants**. p. 21–54. 2008.

HANLEY, M. E.; WHITING, M. D. Insecticides and arable weeds: Effects on germination and seedling growth. **Ecotoxicology**, v. 14, n. 4, p. 483–490, 2005.

HEGAB, M. M. et al. Autotoxicity of chard and its allelopathic potentiality on germination and some metabolic activities associated with growth of wheat seedlings. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 7, p. 884–892, 2008.

HEO, J. Y. et al. Determination of lutein from green tea and green tea by-products using accelerated solvent extraction and UPLC. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 5, p. 816–821, 2014.

HERRERO, M. et al. Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2495–2511, 2010.

HERRERO, M. et al. Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 26–38, 2015.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae - A review. **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 136–148, 2006.

HOSSAIN, M. B. et al. Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 339–346, 2011.

HUSSAIN, I. et al. Allelopathic potential of sesame plant leachate against *Cyperus rotundus* L.

- Annals of Agrarian Science**, v. 15, n. 1, p. 141–147, 2017.
- JABRAN, K. et al. Allelopathy for weed control in agricultural systems. **Crop Protection**, v. 72, p. 57–65, 2015.
- JAMWAL, K.; BHATTACHARYA, S.; PURI, S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 9, n. June 2017, p. 26–38, 2018.
- JARALD, E. E. et al. Anti-inflammatory and anthelmintic activities of *Solanum khasianum* Clarke. **Natural Product Research**, v. 22, n. 3, p. 269–274, 2008.
- JESUS, S. et al. A Simplified Model to Describe the Kinetic Behavior of Supercritical Fluid Extraction from a Rice Bran Oil Byproduct. **Food and Public Health**, v. 3, n. 4, p. 215–222, 2015.
- JIANG, Y. et al. Optimization of pressurized liquid extraction of five major flavanoids from *Lysimachia clethroides*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 1, p. 341–345, 2007.
- JOHANA, A. M. et al. The potential leaves extract of *Piper methysticum* (piperaceae) as botanical insecticide against *Crocidolomia pavonana* (f.) larvae mortality (lepidoptera:crambidae). **E3S Web of Conferences**, v. 73, p. 06015, 2018.
- KANG, J. H.; KIM, S.; MOON, B. Optimization by response surface methodology of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction. **Food Chemistry**, v. 205, p. 140–145, 2016.
- KARAM, F. C.; SCHILD, A. L.; DE MELLO, J. R. B. Intoxicação por Senecio spp. em bovinos no Rio Grande do Sul: Condições ambientais favoráveis e medidas de controle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 7, p. 603–609, 2011.
- KARAM, F. S. C. et al. Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 191–198, 2004.
- KATO-NOGUCHI, H.; INO, T.; KUJIME, H. The relation between growth inhibition and secretion level of momilactone B from rice root. **Journal of Plant Interactions**, v. 5, p. 87–90, 2010.
- KAUSAR, M.; SINGH, B. K. Pharmacological Evaluation of *Solanum viarum* Dunal Leaves Extract for Analgesic and Antipyretic Activities. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 8, n. 4, p. 356–361, 2018.
- KNEZ et al. Industrial applications of supercritical fluids: A review. **Energy**, v. 77, p. 235–243, 2014.
- KÖSE, Y.; ISCAN, G.; DEMIRCI, B. Antimicrobial Activity of the Essential Oils Obtained from Flowering Aerial Parts of *Centaurea lycopifolia* Boiss. et Kotschy and *Centaurea cheirolopha* (Fenzl) Wagenitz from Turkey. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 19, n. 3, p. 762–768, 2016.
- KOÏTA, K.; ZAGRE, B. M. B.; SANKARA, P. Aqueous plant extracts for control of groundnut leaf spot in burkina faso. **African Crops Science Journal**, v. 25, n. 3, p. 311–319, 2017.
- KUEH, B. W. BIN et al. Analysis of Melaleuca cajuputi extract as the potential herbicides for paddy weeds. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 11, p. 36–40, 2019.
- KULKARNI, V. M.; RATHOD, V. K. Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, n.

2, p. 606–611, 2014.

LAOSINWATTANA, C.; WICHITTRAKARN, P.; TEERARAK, M. Chemical composition and herbicidal action of essential oil from *Tagetes erecta* L. leaves. **Industrial Crops & Products**, v. 126, p. 129-134, 2018.

LEE, P. S. et al. Effects of Guanosine on the Pharmacokinetics of Acriflavine in Rats Following the Administration of a 1:1 Mixture of Acriflavine and Guanosine, a Potential Antitumor Agent. **Archives of Pharmacal Research**, v. 30, n. 3, p. 372–380, 2007.

LEONG, T.; ASHOKKUMAR, M.; KENTISH, S. The fundamentals of power ultrasound \textendash a review. **Acoustics Australia**, v. 39, n. 2, 2011.

LI, R. Y. et al. Naturally produced citral can significantly inhibit normal physiology and induce cytotoxicity on *Magnaporthe grisea*. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 118, p. 19-25, 2015.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987.

LIEBERMAN, N. H. A.; LACHMAN, L.; SCHWAZTZ, J. B. (eds.). Pharmaceutical dosage forms. 2 ed. New York: Macel de Kiker, v. 2, p.30-57, 1990.

LIMA, R. N. et al. Extraction from Leaves of Piper klotzschianum using Supercritical Carbon Dioxide and Co-Solvents. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 147, p. 205–212, 2019.

LÓPEZ-HORTAS, L. et al. Flowers of *Ulex europaeus* L.-Comparing two extraction techniques (MHG and distillation). **Comptes Rendus Chimie**, v. 19, n. 6, p. 718–725, 2016.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: Terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. Instituto Plantarum, Nova Odessa, SP. 2000.

LORENZI, H. Manual de identificação e controle de plantas daninhas: plantio direto e convencional. 5. ed. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, p. 371, 2014.

LUQUE DE CASTRO, M. D.; GARCÍA AYUSO, L. E. ENVIRONMENTAL APPLICATIONS | Soxhlet Extraction. **Encyclopedia of Separation Science**, p. 2701–2709, 2004.

MA, Y. N. et al. The beneficial use of essential oils from buds and fruit of *Syzygium aromaticum* to combat pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. **Industrial Crops and Products**, v. 133, p. 185–192, 2019.

MACEDO, G. E. et al. *Senecio brasiliensis* impairs eclosion rate and induces apoptotic cell death in larvae of *Drosophila melanogaster*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology**, v. 198, p. 45–57, 2017.

MACHADO, A. P. D. F. et al. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: A comparison with conventional methods. **Food Research International**, v. 77, p. 675–683, 2015.

MAHDAVIKIA, F.; SAHARKHIZ, M. J.; KARAMI, A. Defensive response of radish seedlings to the oxidative stress arising from phenolic compounds in the extract of peppermint (*Mentha × piperita* L.). **Scientia Horticulturae**, v. 214, p. 133–140, 2017.

MANJARE, S. D.; DHINGRA, K. Supercritical fluids in separation and purification: A review. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 2, n. 3, p. 463–484, 2019.

MANUBOLU, M. et al. Activity-guided isolation and identification of anti-staphylococcal components from *Senecio tenuifolius* Burm. F. leaf extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 3, p. 191–195, 2013.

MANTELL, C. et al. Supercritical fluid extraction. In: RAMASWAMY, S.; HUANG, H. J.; RAMARAO, B. V. **Separation and Purification Technologies in Biorefineries**. First ed. John Wiley & Sons, Ltda, p. 79–100, 2013

MASON, T. J. et al. New evidence for the inverse dependence of mechanical and chemical effects on the frequency of ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 1, p. 226–230, 2011.

MARNETT, L. J. 1999. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. **Mutation Research**, v. 424, p. 83-95, 1999.

MASON, T. J. Trends in sonochemistry and ultrasonic processing. **AIP Conference Proceedings**, v. 1433, p. 21–26, 2012.

MENTZ, L. A.; LUTZEMBERGER, L. .; SCHENKEL, E. P. Da Flora Medicinal do Rio Grande do Sul: Notas sobre a Obra de D'ávila (1910). **Caderno de Farmácia**, v. 5, n. 13, p. 25–48, 1997.

MELO, M. M. R.; SILVESTRE, A. J. D.; SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 115–176, 2014.

MESOMO, M. C. et al. Supercritical CO<sub>2</sub> extracts and essential oil of ginger (*Zingiber officinale* R.): Chemical composition and antibacterial activity. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 80, p. 44–49, 2013.

MILNER, S. E. et al. Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from *Solanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 8, p. 3454–3484, 2011.

MINOZZO, M. et al. Modeling of the overall kinetic extraction from maytenus aquifolia using compressed CO<sub>2</sub>. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 29, n. 4, p. 835–843, 2012.

MOSSI, A.J. et al. Essential oil of *Ocotea odorifera*: An alternative against *Sitophilus zeamais*. **Renewable Agriculture and Food Systems**, v. 29, p. 161-166, 2014.

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.

NISHIDA, N. et al. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: Inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 5, p. 1187–1203, 2005.

OLIVEIRA, O.C.; SILVA, M. J., TELES, A. M. *Senecio L.* (Asteraceae, Senecioneae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Hoehnea**. v. 42, n. 4, p. 703–724, 2015.

OSORIO-TOBÓN, J.; ANGELA A. MEIRELES, M. Recent Applications of Pressurized Fluid Extraction: Curcuminoids Extraction with Pressurized Liquids. **Food and Public Health**, v. 3, n. 6, p. 289–303, 2013.

PANDEY, S.; SHUKLA, P.; MISRA, P. Physical state of the culture medium triggers shift in morphogenetic pattern from shoot bud formation to somatic embryo in *Solanum khasianum*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.24, n.6, p.1295–1305, 2018.

- PANZIERA, W. et al. Poisoning of cattle by *Senecio* spp. In Brazil: A review. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 38, n. 8, p. 1459–1470, 2018.
- PATEL, K.; SINGH, R. B.; PATEL, D. K. Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of solasodine: A concise report of current scientific literature. **Journal of Acute Disease**, v. 2, n. 2, p. 92–98, 2013.
- PATIL, D. M.; AKAMANCHI, K. G. Ultrasound-assisted rapid extraction and kinetic modelling of influential factors: Extraction of camptothecin from *Nothapodytes nimmoniana* plant. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 37, p. 582–591, 2017.
- PEDRAS MSC, Ahiahonu PWK. Phytotoxin production and phytoalexin elicitation by the phytopathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, p. 2163–2179, 2004.
- PEREIRA, D. T. V. et al. Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from grape marc. **Journal of Food Engineering**, v. 240, p. 105–113, 2019.
- PÉRINO-ISSARTIER, S. et al. A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. **Journal of Chromatography A**, v. 1305, p. 41–47, 2013.
- PERRUT, M. Supercritical fluid applications: Industrial developments and economic issues. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 39, n. 12, p. 4531–4535, 2000.
- PILATI, C.; BARROS, C. S. L. Intoxicação experimental por *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) em eqüinos. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 27, n. 7, p. 287–296, 2007.
- PINTOS, B. et al. Antifungal effects of phenolic extract from industrial residues of *Aloe vera*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 16, n. 4, p. e1010, 2018.
- PITAROKILI, D. et al. Volatile metabolites from *Salvia fruticosa* as antifungal agents in soilborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3294–3301, 2003.
- PONTIN, M. et al. *Allium sativum* produces terpenes with fungistatic properties in response to infection with *Sclerotium cepivorum*. **Phytochemistry**, v. 115, p. 152–160, 2015.
- POONPAIBOONPIPAT, T. et al. Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 403–407, 2013.
- POULIOT, Y.; CONWAY, V.; LECLERC, P. Separation and Concentration Technologies in Food Processing. In: CLARK, S.; JUNG, S.; LAMSAL, B. **Food Processing: Principles and Applications**. Second ed. John Wiley & Sons, Ltda, p. 33–60, 2014.
- PROCÓPIO, S.O. DE et al. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação *Sitophilus zeamais* MOST. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 6, p. 1231–1236, 2003.
- PRONYK, C.; MAZZA, G. Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 215–226, 2009.

- RADHAKRISHNANA, R.; ALQARAWIB, A. A.; ALLAHB, E. F. A. Bioherbicides: Current knowledge on weed control mechanism - **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 158, p. 131-138, 2018.
- RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling and Behavior**, v. 6, n. 11, p. 1720–1731, 2011.
- RAVI, H. K. et al. Biorefining of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) Pomace Using Microwave Hydrodiffusion and Gravity, Ultrasound-Assisted, and Bead-Milling Extraction. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 6, n. 3, p. 4185–4193, 2018.
- REÁTEGUI, J. L. et al. Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus* sp.) bagasse using supercritical CO<sub>2</sub> assisted by ultrasound. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 223–233, 2014.
- REYES, E. I. M. et al. Eucalyptus resinifera essential oils have fumigant and repellent action against *Hypothenemus hampei*. **Crop Protection**, v. 116, p. 49–55, 2019.
- RIOBA, N. B.; STEVENSON, P. C. *Ageratum conyzoides* L. for the management of pests and diseases by small holder farmers. **Industrial Crops and Products**, v. 110, n. April, p. 22–29, 2017.
- RIVERA, A. I.; GUERRERO-ÁLVAREZ, G. E. *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baillon (Annonaceae) active metabolites as alternative biocontrol agents against the lace bug *Corythucha gossypii* (Fabricius): an insect pest. **Universitas Scientiarum**, v. 23, n. 1, p. 21, 2018.
- ROMBAUT, N. et al., Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. **Biofuels, Bioprod. Bioref.**, v. 8, p. 530-544, 2014.
- ROMO-ASUNCIÓN, D. et al. Juvenomimetic and Insecticidal Activities of *Senecio salignus* (Asteraceae) and *Salvia microphylla* (Lamiaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) . **Florida Entomologist**, v. 99, n. 3, p. 345–351, 2016.
- ROMO DE VIVAR, A. et al. Secondary Metabolites from Mexican Species of the Tribe Senecioneae (Asteraceae). **Journal of Mexican Chemistry**, v. 51, n. 3, p. 160–172, 2007.
- SADGROVE, N.; JONES, G. A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. **Agriculture**, v.5, n.1, p. 48–102, 2015.
- SALEM, M. Z. M.; BEHIRY, S. I.; EL-HEFNY, M. Inhibition of *Fusarium culmorum*, *Penicillium chrysogenum* and *Rhizoctonia solani* by n-hexane extracts of three plant species as a wood-treated oil fungicide. **Journal of Applied Microbiology**, v. 126, n. 6, p. 1683–1699, 2019.
- SALLET, D. et al. Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Mortierella isabellina*. **Journal of Food Engineering**, v. 242, n. July 2018, p. 1–7, 2019.
- SANDERSON, B. Applied sonochemistry– the uses of power ultrasound in chemistry and processing. By Timothy J Mason and John P Lorimer, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2002. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 79, n. 2, p. 207–208, 2004.
- SANDLER, S. I. Principles of Hazardous Materials Management. **Chemical and Engineering Thermodynamics (second edition)**. New York: Wiley Inter Science, p. 622, 1989.
- SANDINI, T. M.; UDO, M. S. B.; SPINOSA, H. D. S. *Senecio brasiliensis* e alcalóides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana. **Biotemas**, v. 26, n. 2, p. 83–92,

2013.

SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba skins. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 3, p. 444–452, 2012.

SANTOS, K. A. et al. Extraction of vetiver (*Chrysopogon zizanioides*) root oil by supercritical CO<sub>2</sub>, pressurized-liquid, and ultrasound-assisted methods and modeling of supercritical extraction kinetics. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 150, p. 30–39, 2019a.

SANTOS, K. A. et al. Pressurized liquid and ultrasound-assisted extraction of  $\alpha$ -bisabolol from candeia (*Eremanthus erythropappus*) wood. **Industrial Crops and Products**, v. 130, n. September 2018, p. 428–435, 2019b.

SANTOS, P. L. et al. Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. Enciclopédia biosfera, **Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v.9, n.17, p. 2563, 2013.

SARGENTI, S. R.; LANÇAS, F. M. Influence of the extraction mode and temperature in supercritical fluid extraction of brazilian *citrus*. Part I. Riva Del Garda. **International Symposium on Capillary Chromatography**, Riva Del garda, p.1800-1812, 1994.

SASIDHARAN, S. et al. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **Afr J Tradit Complement Altern Med**. v. 8, p. 93–130, 2011.

SCHMID, R., & HUNZIKER, A. T. Genera Solanacearum: The Genera of Solanaceae Illustrated, Arranged According to a New System. *Taxon*, 50(4), 1294. **International Association for Plant Taxonomy**, 2001.

SCHREINER, M. et al. UV-B-Induced Secondary Plant Metabolites - Potential Benefits for Plant and Human Health. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 31, n. 3, p. 229–240, 2012.

SCOTT, P. **Physiology and Behaviour of Plants**. John Wiley and Sons, Hoboken, USA, p. 305, 2008.

SCRIVANTI, L. R.; ZUNINO, M. P.; ZYGADLO, J. A. *Tagetes minuta* and *Shinus arera* essential oils as allelopathic agents. **Biochemical Systematic and Ecology**, v. 31, p. 563-572, 2003.

SEIDEL, V. Initial and Bulk Extraction of Natural Products Isolation. **Natural Products Isolation, Methods in Molecular Biology**, v. 864, 2012.

SETYANINGSIH, W. et al. Pressurized liquid extraction of phenolic compounds from rice (*Oryza sativa*) grains. **Food Chemistry**, v. 192, p. 452–459, 2016.

SETYANINGSIH, W. et al. Optimisation of an ultrasound-assisted extraction method for the simultaneous determination of phenolics in rice grains. **Food Chemistry**, v. 288, n. January, p. 221–227, 2019.

SHANG, Y. F.; KIM, S. M.; UM, B. H. Optimisation of pressurised liquid extraction of antioxidants from black bamboo leaves. **Food Chemistry**, v. 154, p. 164–170, 2014.

SHARAYEI, P. et al. Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. **Lwt**, v. 101, p. 342–350, 2019.

SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, 2016.

SILVA, D. C. et al. Toxicity and behavioral alterations of essential oils of *Eplingiella fruticosa* genotypes and their major compounds to *Acromyrmex balzani*. **Crop Protection**, v. 116, p. 181–187, 2019.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5ª edição, Porto Alegre/ Florianópolis, Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, 2000.

SOARES, E. L. C. et al. A Família Solanaceae no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 6, n.3, p. 177-188, 2008.

SOQUETTA, M. B.; TERRA, L. DE M.; BASTOS, C. P. Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. **CYTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 400–412, 2018.

SOUZA, R. R. et al. Modulatory effect of *Senecio brasiliensis* (Spreng) Less. in a murine model of inflammation induced by carrageenan into the pleural cavity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 168, p. 373–379, 2015.

SPARKS, D. et al. Extraction of rice bran oil using supercritical carbon dioxide and propane. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 83, p. 885-891, 2006.

STEVANATO, N.; DA SILVA, C. Radish seed oil: Ultrasound-assisted extraction using ethanol as solvent and assessment of its potential for ester production. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 283–291, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artemed. p. 954, 2013.

TAVARES, M.A.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade da Erva-de-Santa-Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 2, p. 319-323, 2005.

TAKSHAK, S.; AGRAWAL, S. B. Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 193, p. 51–88, 2019.

TELES, A M. *Senecio* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB115655>> Acesso em: 07 de jun. 2019).

TENA, M. T. Pressurized Liquid Extraction. **Encyclopedia of Analytical Science** 3. ed. 2018.

THAKUR, M. et al. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 12, p. 1–12, 2019.

TODERO, I. et al. Concentration of metabolites from *Phoma* sp . using microfiltration membrane for increasing bioherbicidal activity. **Environmental Technology**, p. 1-9, 2018.

TOMA, W. et al. Modulation of gastrin and epidermal growth factor by pyrrolizidine alkaloids obtained from *Senecio brasiliensis* in acute and chronic induced gastric ulcers . **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 82, n. 5, p. 319–325, 2004.

TRIGO, J. R. et al. Chemotaxonomic value of pyrrolizidine alkaloids in southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, n. 9, p. 1011–1022, 2003.

TROJANOWSKA, A. et al. Ultrasound-assisted extraction of biologically active compounds



and their successive concentration by using membrane processes. **Chemical Engineering Research and Design**, 2019.

TURK, M. et al. Alternative process for strawberry juice processing: Microwave hydrodiffusion and gravity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 84, p. 626–633, 2017.

TZIA, C.; LIADAKIS, G. **Extraction optimization in food engineering**. New York: Marcel Dekker, p. 442, 2003.

USMAN, A. Comparative efficacy of indigenous plant extracts and a synthetic insecticide for the management of tomato fruit worm (*Helicoverpa armigera* Hub.) and their effect on natural enemies in tomato crop. **Pure and Applied Biology**, v. 7, n. 3, p. 1014–1020, 2018.

VÁZQUEZ-LEÓN, L. A. et al. Modeling of counter-current multistage extraction of *Moringa oleifera* leaves using a mechanistic model. **Food and Bioproducts Processing**, v. 115, p. 165–174, 2019.

VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Ethnobotanical survey of the medicinal plants used by the community of Ponta Grossa neighborhood, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 61, n. 1987, p. 83–103, 2006.

VERONEZ, B, Sato, E.M, Nicastro, L.B. Toxicidade de compostos sintéticos e naturais sobre *Tetranychus urticae* e o predador *Phytoseiulus macropilis* - **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.4, p.511-518, 2012.

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, 2015.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159–178, 2017.

VIVAS, D.; IBÁÑEZ, J. M. Extraction: Supercritical Fluid Extraction. **Encyclopedia of Analytical Science**, 3. ed, 2018.

VOIGT, R. Pharmazeustische Technologie. Ausgabe, Berlin: Ullstein Mosby, 1993.

WANG, D.; HUANG, L.; CHEN, S. *Senecio scandens* Buch.-Ham.: A review on its ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and toxicity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, n. 1, p. 1–23, 2013.

WANG, S. et al. Characterization of the secondary metabolite biosynthetic gene clusters in archaea. **Computational Biology and Chemistry**, v. 78, p. 165–169, 2019.

WANG, Y. et al. Potential use of cuminic acid as a botanical fungicide against *Valsa mali*. **Microbial Pathogenesis**, v.106, p. 9–15, 2017.

WEI, Y. QIN; SUN, M. MAN; FANG, H. YAN. Dienzyme-assisted salting-out extraction of flavonoids from the seeds of *Cuscuta chinensis* Lam. **Industrial Crops and Products**, v. 127, p.232–236, 2019.

WEI, Z. F. et al. Fast and green extraction and separation of main bioactive flavonoids from *Radix scutellariae*. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 175–181, 2015.

WEISANY, W. et al. Enhancement of the antifungal activity of thyme and dill essential oils

against *Colletotrichum nymphaeae* by nano-encapsulation with copper NPs. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 213–225, 2019.

WEN, C. et al. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 48, p. 538–549, 2018.

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.

YANG, G. Q. et al. Cellular and ultrastructural changes in the seedling roots of upland rice (*Oryza sativa*) under the stress of two allelochemicals from *Ageratina adenophora*. **Weed Biology and Management**, v. 11, n. 3, p. 152–159, 2011.

YIN, J. Z. et al. Analysis of the operation conditions for supercritical fluid extraction of seed oil. **Separation and Purification Technology**, v. 43, n. 2, p. 163–167, 2005.

YOSHIMURA, H. et al. 1,8-Cineole Inhibits Both Proliferation and Elongation of BY-2 Cultured Tobacco Cells. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 3, p. 320–328, 2011.

YU, H. B. et al. Study on Extraction of Polyphenol from Grape Peel Microwave-Assisted Activity. **Advanced Materials Research**, v. 864–867, p. 520–525, 2013.

YUAN, J. et al. Multiple responses optimization of ultrasonic-assisted extraction by response surface methodology (RSM) for rapid analysis of bioactive compounds in the flower head of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 192–199, 2015.

ZABOT, G. L. et al. Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. **Food Research International**, v. 85, p. 26–35, 2016.

ZAIBUNNISA, A. H. et al. An experimental design approach for the extraction of volatile compounds from turmeric leaves (*Curcuma domestica*) using pressurised liquid extraction (PLE). **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 233–238, 2009.

ZAKARIA, M. BIN et al. Anti-inflammatory Activity of *Calophyllum inophyllum* Fruits Extracts. **Procedia Chemistry**, v.13, p. 218–220, 2014.

ZAYNAB, M. et al. Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 124, n. July, p. 198–202, 2018.

ZHAO, W. et al. Allelopathically inhibitory effects of eucalyptus extracts on the growth of *Microcystis aeruginosa*. **Chemosphere**, v. 225, p. 424–433, 2019.

ZILL-E-HUMA et al. Clean recovery of antioxidant flavonoids from onions: Optimising solvent free microwave extraction method. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 45, p. 7700–7707, 2009.