



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA



KRISTOPHER RODRIGUES DORNELES

**PURIFICAÇÃO DE EXTRATO DE ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum gratissimum* L.)
UTILIZANDO PROCESSO DE FILTRAÇÃO POR MEMBRANAS**

Uberlândia – MG

2023

KRISTOPHER RODRIGUES DORNELES

**PURIFICAÇÃO DE EXTRATO DE ALFAVACA-CRAVO (*Ocimum gratissimum* L.)
UTILIZANDO PROCESSO DE FILTRAÇÃO POR MEMBRANAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química - PPGEQ, da Universidade Federal de Uberlândia - UFU, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Área de concentração: Desenvolvimento em processos químicos

Linha de pesquisa: Engenharia bioquímica

Orientação: Profa. Dra. Miria Hespanhol Miranda Reis

UBERLÂNDIA – MG

2023

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

D713 Dorneles, Kristopher Rodrigues, 1995-
2023 Purificação de extrato de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) utilizando processo de filtração por membranas [recurso eletrônico] / Kristopher Rodrigues Dorneles. - 2023.

Orientadora: Miria Hespanhol Miranda Reis.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Engenharia Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2023.336>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Engenharia química. I. Reis, Miria Hespanhol Miranda, 1978-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Engenharia Química. III. Título.

CDU: 66.0

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:
Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1K, Sala 206 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34)3239-4249 - www.ppgeq.feq.ufu.br - secppgeq@feq.ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-graduação em:	Engenharia Química				
Defesa de:	Mestrado Acadêmico, 12/2023, PPGEQ				
Data:	11 de julho de 2023	Hora de início:	9:00	Hora de encerramento:	11:30
Matrícula do Discente:	12122EQU005				
Nome do Discente:	Kristopher Rodrigues Dorneles				
Título do Trabalho:	Purificação de extrato de alfavaca-cravo (<i>ocimum gratissimum l.</i>) utilizando processo de filtração por membranas				
Área de concentração:	Desenvolvimento de Processos Químicos				
Linha de pesquisa:	Engenharia Bioquímica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Processos de separação utilizando membranas				
ODS-ONU:	ODS 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável				

Reuniu-se por meio de webconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, assim composta: Professoras Doutoras: Grasielle Scaramal Madrona - DEA/UEM, Juliana de Souza Ferreira - PPGEQ/UFU e Miria Hespanhol Miranda Reis - PPGEQ/UFU, orientadora do candidato.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Profª Drª Miria Hespanhol Miranda Reis, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir, a presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente às examinadoras, que passaram a arguir o candidato. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o candidato:

Aprovado

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Miria Hespanhol Miranda Reis, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/07/2023, às 11:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Grasiele Scaramal Madrona, Usuário Externo**, em 11/07/2023, às 11:30, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana de Souza Ferreira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 11/07/2023, às 11:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4636015** e o código CRC **B517121D**.

A todas as pessoas a quem eu quero bem
e que foram força motriz na minha
trajetória.

[...] aprendi por experiência própria que toda estrada leva a algum lugar, ou não existiria uma estrada, então é provável que, se andarmos o bastante [...] chegaremos a algum lugar no final. A que lugar chegaremos não sabemos neste momento, mas certamente descobriremos quando chegarmos lá (L. F. BAUM, 1909).

RESUMO

A utilização de plantas alimentícias não-convencionais apresenta maior diversidade na obtenção de micronutrientes e compostos bioativos com caráter antioxidante. A alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.), uma planta medicinal encontrada em áreas tropicais e já utilizada na medicina popular, se enquadra nesses quesitos e apresenta potencial de avançar na cadeia produtiva, gerando fitoterápicos e alimentos funcionais. A obtenção de fitoquímicos é geralmente realizada por processos de extração seguidos de processo de purificação. Os processos de separação por membranas se destacam como processos de clarificação e purificação de extratos por retornarem um produto com qualidade, sem perder propriedades essenciais dos compostos bioativos. Este trabalho buscou avaliar o processo de ultrafiltração com membranas poliméricas para clarificar o extrato aquoso de alfavaca-cravo. De forma a melhorar a qualidade das membranas, foi buscado ainda o revestimento de uma membrana com óxido de grafeno e a avaliação de sua performance na filtração do mesmo extrato. A extração dos compostos fenólicos foi realizada a 75 °C por 120 min, utilizando uma razão sólido-líquido de 1 g de folhas secas para 100 mL do solvente extrator. As membranas utilizadas no processo de ultrafiltração foram 2 membranas planas de polietersulfona de 10 kDa e 150 kDa e 1 membrana plana de 150 kDa revestida com solução de óxido de grafeno. O extrato bruto foi caracterizado quanto ao conteúdo de compostos fenólicos totais ($340,22 \pm 1,82 \text{ mgEAG} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$), à capacidade antioxidante ($2493,54 \pm 77,61 \mu\text{M}_{\text{ET}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ para o método de DPPH e $2597,10 \pm 175,52 \mu\text{M}_{\text{ET}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ para o método de ABTS), à turbidez ($29,5 \pm 2,1 \text{ NTU}$), ao teor de sólidos totais ($0,230 \pm 0,038 \%$) e outras análises pertinentes. O processo de filtração com a membrana de 10 kDa possibilitou remoção de 64% dos sólidos totais e 84% da turbidez e manteve 50% do teor de compostos fenólicos totais no permeado. Já o processo de filtração com a membrana de 150 kDa manteve 60% de do teor de compostos fenólicos totais e removeu 27% dos sólidos totais e 30,5% da turbidez. A membrana revestida com óxido de grafeno criou maior restrição à passagem do fluxo de extrato e apresentou uma resistência intrínseca 225 vezes maior que a membrana sem revestimento. No decaimento do fluxo, o maior contribuinte para a operação com membrana de 10 kDa foi a formação de torta, enquanto todos os mecanismos contribuíram no decaimento do fluxo na operação com membrana de 150kDa. Em relação ao modelo de resistências em série, a polarização por concentração causou maior efeito de resistência nas membranas de 10 kDa e de 150 kDa, enquanto o conjunto da incrustação reversível e de incrustação irreversível causou a maior resistência na membrana revestida. A operação de ultrafiltração com membranas mais restritivas foi eficiente para concentrar compostos bioativos, como catequinas e ácidos fenólicos de baixo peso molecular. Por fim, a ultrafiltração se apresentou como um processo eficiente para clarificar o extrato de alfavaca-cravo e segue como promissor processo de clarificação de extratos diversos.

Palavras-chave: Alfavacão; Clarificação; Compostos fenólicos; Óxido de grafeno; Ultrafiltração.

ABSTRACT

Using neglected and underutilized species present greater diversity in obtaining micronutrients and bioactive compounds with antioxidant properties. Clove basil (*Ocimum gratissimum* L.), a medicinal plant found in tropical areas and already used in folk medicine, has the potential to advance in the productive chain, generating herbal medicines and functional foods. Obtaining phytochemicals is usually performed by extraction processes followed by a purification process. Membrane separation processes stand out as clarification and purification processes granting a quality product without losing the essential properties of bioactive compounds. This work aims to evaluate ultrafiltration with polymeric membranes to clarify the aqueous extract of clove basil. To improve the quality of the membrane, we also proposed coating a membrane with graphene oxide and evaluating its performance in the filtration of the same extract. The extraction of phenolic compounds was performed at 75 °C for 120 min using a solid-liquid ratio of 1 g of dry leaves to 100 mL of solvent. The membranes used in the extraction process were 10 kDa and 150 kDa polyethersulfone membranes and a 150 kDa membrane coated with graphene oxide solution. The crude extract was characterized as to the content of total phenolic compounds ($340.22 \pm 1.82 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}_{\text{extract}}^{-1}$), antioxidant capacity ($2493.54 \pm 77.61 \text{ } \mu\text{M}_{\text{ET}} \cdot \text{g}_{\text{extract}}^{-1}$ for the DPPH assay and $2597.10 \pm 175.52 \text{ } \mu\text{M}_{\text{ET}} \cdot \text{g}_{\text{extract}}^{-1}$ for the ABTS assay), to the colour, turbidity ($29.5 \pm 2.1 \text{ NTU}$), to the content of total solids ($0.230 \pm 0.038 \%$) and other relevant analyzes. The 10 kDa membrane filtration process made it possible to remove 64% of total solids and 84% of turbidity and maintained 50% of the content of total phenolic compounds in the permeate. The 150 kDa membrane filtration process maintained 60% of the content of total phenolic compounds and removed 27% of total solids and 30.5% of turbidity. The membrane coated with graphene oxide created a greater restriction on the passage of extract flow and showed an intrinsic resistance 225 times greater than the membrane without coating. In the flow decay analysis, the largest contributor to the 10 kDa membrane operation was cake formation, while all mechanisms contributed to the flow decay in the 150 kDa membrane operation. Regarding the series resistance model, concentration polarization caused a greater effect of resistance on 10 kDa and 150 kDa membranes, while the combined action of reversible and irreversible fouling caused the highest resistance in the coated membrane. Using more restrictive membranes was efficient to concentrate bioactive compounds, such as catechins and low molecular-weight phenolic acids. Finally, ultrafiltration presented itself as an efficient process to clarify the clove basil extract and follows as a promising process of clarification of various extracts.

Keywords: Clove basil; Clarification; Phenolic compounds; Graphene oxide; Ultrafiltration.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1. OBJETIVOS	10
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1. A PLANTA <i>Ocimum gratissimum</i> L.	12
2.1.1. Compostos bioativos presentes em <i>Ocimum gratissimum</i> L.	13
2.2. PROCESSAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS	16
2.2.1. Secagem de plantas medicinais	16
2.2.2. Extração de compostos bioativos	16
2.3. PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS	18
2.3.1. Processos baseados na diferença de pressão	20
2.3.2. Aplicações dos processos de separação por membranas	23
2.4. ÓXIDO DE GRAFENO	24
2.4.1. Membranas de óxido de grafeno	26
3. METODOLOGIA	28
3.1. MATERIAIS	28
3.1.1. Processamento da matéria-prima	28
3.1.2. Reagentes	28
3.2. PROCESSO DE EXTRAÇÃO	29
3.2.1. Extração de compostos bioativos de <i>Ocimum gratissimum</i> L.	29
3.2.2. Cinética de extração dos compostos bioativos	29
3.3. PROCESSO DE FILTRAÇÃO	30
3.3.1. Ultrafiltração dos extratos aquosos	30
3.3.2. Modelo de decaimento de fluxo	33
3.3.3. Modelo de resistências em série	33
3.4. PROCESSO DE MODIFICAÇÃO DA MEMBRANA	35
3.4.1. Síntese do óxido de grafeno	35
3.4.2. Esfoliação do óxido de grafeno	36
3.4.3. Deposição de óxido de grafeno na membrana	37
3.4.4. Caracterização do óxido de grafeno e da membrana revestida	38
3.5. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	38
3.5.1. Conteúdo de compostos fenólicos totais	39
3.5.2. Atividade antioxidante pelo método de ABTS	39
3.5.3. Atividade antioxidante pelo método de DPPH	40

3.5.4.	Sólidos totais.....	40
3.5.5.	Sólidos solúveis totais.....	41
3.5.6.	Turbidez	41
3.5.7.	Cor.....	41
3.5.8.	Análises cromatográficas	41
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1.	CINÉTICA DE EXTRAÇÃO	44
4.2.	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS.....	47
4.2.1.	Pela quantidade de compostos fenólicos	47
4.2.2.	Pela atividade antioxidante.....	51
4.2.3.	Pelas demais análises físico-químicas.....	52
4.3.	MODIFICAÇÃO DA MEMBRANA.....	53
4.3.1.	Caracterização do óxido de grafeno	53
4.3.2.	Caracterização da membrana revestida.....	56
4.4.	FILTRAÇÃO	58
4.4.1.	Permeabilidade	58
4.4.2.	Ultrafiltração	60
4.4.3.	Modelo de decaimento do fluxo	61
4.4.4.	Modelo de resistências em série.....	64
4.5.	CARACTERIZAÇÃO DO PERMEADO	67
4.5.1.	Pelas análises físico-químicas	67
4.5.2.	Pelas análises cromatográficas	69
5.	CONCLUSÃO	75
5.1.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	76
	REFERÊNCIAS	78
	ANEXO A – CURVAS ANALÍTICAS	86

1. INTRODUÇÃO

A inserção de plantas alimentícias não-convencionais (PANC) na matriz alimentícia é uma estratégia para garantir a segurança alimentar no mundo, atuando não só na luta contra pobreza e desnutrição, como também para uma produção sustentável. As plantas medicinais, assim como as PANC, são espécies negligenciadas e subutilizadas que contam com valores significativos de micronutrientes, proteínas e fibras, além de compostos bioativos com caráter antioxidante, como ácidos fenólicos e taninos (Bacchetta *et al.*, 2016; de Souza *et al.*, 2021; Padulosi, Thompson e Rudebjer, 2013).

O Brasil é um território rico em biodiversidade e em saberes. A utilização de plantas medicinais remonta à medicina popular, mas ganha destaque quando políticas públicas reconhecem as potencialidades destas matrizes vegetais. Um exemplo é a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que incentiva o uso racional de vegetais com fins terapêuticos e sua produção sustentável. Uma das ferramentas desta política é uma listagem com 71 espécies de plantas medicinais que apresentam potencial de avançar na cadeia produtiva para gerar fitoterápicos e outros consumíveis, incluindo a alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) (Brasil, 2016; Vilanova *et al.*, 2019).

A alfavaca-cravo é uma lamiácea de áreas tropicais que apresenta potencial antioxidante. É utilizada na medicina popular, na forma de chás e infusões, para alívio de sintomas gripais, respiratórios, gastrointestinais, urinários e micóticos (Pereira e Maia, 2007; Vilanova *et al.*, 2019).

Os processos de extração, purificação e concentração são etapas que impactam diretamente na estabilidade dos extratos e na qualidade dos compostos isolados. A recuperação de fitoquímicos demanda técnicas de extração sólido-líquido e de purificação otimizadas, alinhadas com as exigências da indústria e do mercado. A destinação de compostos bioativos de matrizes vegetais inclui a indústria de bebidas e a produção de fitoterápicos, além do crescente mercado de alimentos funcionais e de cosméticos (Bacchetta *et al.*, 2016; Bindes *et al.*, 2020; Naviglio *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2020).

Os processos de purificação e de clarificação utilizando membranas se destacam frente aos processos tradicionais por apresentarem menor demanda

energética e menor tempo de processamento, por gerarem menos resíduos e por dependerem de pouca mão de obra (Gerke *et al.*, 2017; Mondor, Girard e Moresoli, 2000).

A utilização de filtração por membranas é conhecida para clarificação de molhos, como de soja (Sun *et al.*, 2018); de sucos, como de maçã (Mondor, Girard e Moresoli, 2000) e de maracujá (Domingues *et al.*, 2014); e de extratos de plantas comercialmente aceitas, como de chá verde (Bindes *et al.*, 2020) e de erva-mate (Santos *et al.*, 2020).

Para além de utilizar um processo eficiente de filtração, as pesquisas procuram melhorar as propriedades das membranas. Existe a busca por novas geometrias e novos materiais, além da tentativa de inserção de óxido de grafeno em membranas para aproveitar as propriedades de hidrofiliicidade, resistência mecânica e seletividade que o nanomaterial agrega à estrutura (Bindes *et al.*, 2020; Ribeiro *et al.*, 2022; Sharif Nasirian *et al.*, 2021).

No estudo de plantas medicinais, os trabalhos da área de saúde se destacam por caracterizar os extratos aquosos e os óleos essenciais, com base em suas propriedades terapêuticas e funcionais. Entretanto, existem lacunas nos trabalhos da área de engenharia a respeito da avaliação dos processos de extração e de purificação dos extratos obtidos. Assim, existe campo para a investigação sobre a utilização dos processos de filtração por membranas para o processamento de plantas medicinais e outras plantas subutilizadas, o que enquadra este trabalho como relevante e atual.

1.1. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a purificação e a clarificação do extrato de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) mediante processo de ultrafiltração por membranas. Como objetivos específicos, foram desempenhadas as seguintes tarefas:

- Avaliar, de forma global, o processo de extração aquosa de compostos fenólicos das folhas de alfavaca-cravo;
- Acompanhar a extração dos compostos bioativos pelo tempo de processo;

- Sintetizar, esfoliar e caracterizar amostra de óxido de grafeno;
- Depositar solução de óxido de grafeno em membrana polimérica e caracterizar a membrana revestida;
- Clarificar o extrato por processo de ultrafiltração com membranas poliméricas e membrana revestida com óxido de grafeno;
- Fazer a modelagem dos fluxos de permeado e calcular as resistências que atuaram sobre as membranas;
- Caracterizar o extrato bruto e o permeado por quantidade de compostos fenólicos, capacidade antioxidante e outras avaliações físico-químicas;
- Detectar e quantificar ácidos fenólicos específicos no extrato por métodos cromatográficos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A PLANTA *Ocimum gratissimum* L.

A planta *Ocimum gratissimum* L., apresentada na Figura 1, é um subarbusto ereto, perene, ramificado e de base lenhosa, encontrado em áreas tropicais da África, da Ásia e da América do Sul. Seus nomes populares incluem "alfavacão", "manjerição-cheiroso" e "alfavaca-cravo"; este último devido ao forte e agradável aroma similar ao cravo-da-índia. Neste trabalho, os termos *Ocimum gratissimum* L. e alfavaca-cravo são usados como sinônimos para identificar a planta do estudo. Em inglês, a planta é conhecida como "*tree basil*", "*clove basil*" ou "*scent leaf*" (Kinupp e Lorenzi, 2014; Ugbogu *et al.*, 2021).

Figura 1 – Planta *Ocimum gratissimum* L. (A) e detalhe das folhas da planta (B)



Fonte: o autor

A alfavaca-cravo é pertencente à família Lamiaceae e ao gênero *Ocimum*. Segundo o catálogo "*Plants of the World Online*" (POWO, 2023), este gênero compreende 65 espécies aceitas, cujas folhas e flores são ricas em ácidos fenólicos,

flavonoides e outros compostos bioativos. Estas espécies apresentam potencial antioxidante e efeitos anti-inflamatórios.

Na medicina tradicional, a alfavaca-cravo é empregada para tratar tosse, febre, diarreia, cólicas e infecções fúngicas e bacterianas. Além do uso tradicional para chás e infusões, as folhas da planta podem ser aplicadas como condimento e aromatizante, utilizadas no preparo de peixes e sopas, e até ser consumidas empanadas. Diversas pesquisas da área da saúde buscam desvendar a atuação dos compostos bioativos presentes na alfavaca-cravo e determinar suas funções antibacteriana, antifúngica, antiprotozoária, inseticida, hipoglicêmica, antioxidante, entre outras (Kinupp e Lorenzi, 2014; Ugbogu *et al.*, 2021; Vilanova *et al.*, 2019).

2.1.1. Compostos bioativos presentes em *Ocimum gratissimum* L.

Os compostos bioativos podem ser descritos como metabólitos secundários das plantas que não participam diretamente das rotas de desenvolvimento da planta, mas apresentam efeitos farmacológicos ou toxicológicos em outras espécies. Existem mais de 8000 estruturas de polifenóis conhecidas, variando de moléculas simples, como os ácidos fenólicos, até substâncias altamente polimerizadas, como os taninos (Bernhoft, 2010; Dai e Mumper, 2010).

A classificação dos compostos fenólicos presentes em plantas pode ser feita em diferentes critérios, como função clínica, efeitos biológicos, categorização botânica, rota bioquímica e classe química, por exemplo (Bernhoft, 2010). Uma classificação por classe química é apresentada no Quadro 1.

Os ácidos fenólicos apresentam um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, o que confere propriedades antioxidantes ao vegetal. Os ácidos fenólicos são divididos em 2 grupos: derivados do ácido benzoico, como o ácido gálico e o ácido vanílico, e derivados do ácido cinâmico, como o ácido cafeico e o ácido ferúlico. O ácido cafeico, por exemplo, é um dos mais abundantes em frutas e vegetais, enquanto o ácido ferúlico está muito presente em cereais (Angelo e Jorge, 2007; Dai e Mumper, 2010).

Os flavonoides, por sua vez, podem ser divididos em 6 grupos: flavonas, flavonóis, flavanóis, flavanonas, isoflavonas e antocianinas. Dentre os flavonoides

mais comuns, tem-se: a quercetina, um flavonol abundante na cebola, no brócolis e na maçã; a catequina, um flavanol encontrado em chás e frutas; e a cianidina, uma antocianina abundante em amora, framboesa e groselha (Dai e Mumper, 2010).

Quadro 1 – Classes dos compostos fenólicos em plantas

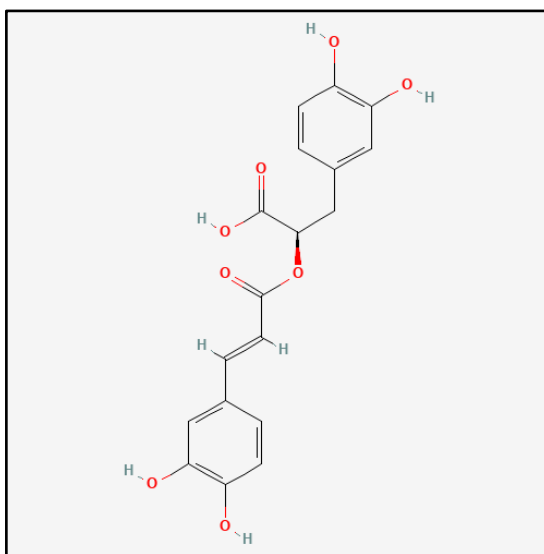
Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzoicos	$C_6 - C_1$
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	$C_6 - C_2$
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanoides	$C_6 - C_3$
Nafitoquinonas	$C_6 - C_4$
Xantonas	$C_6 - C_1 - C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6 - C_2 - C_6$
Flavonoides, isoflavonoides	$C_6 - C_3 - C_6$
Lignananas, neolignananas	$(C_6 - C_3)_2$
Biflavonoides	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$
Ligninas	$(C_6 - C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6 - C_3 - C_6)_n$

Fonte: adaptado de Angelo e Jorge (2007)

Segundo o levantamento de Ugboqu *et al.* (2021), os principais compostos fenólicos encontrados na planta *Ocimum gratissimum* L. são: ácido sinapínico, ácido rosmarínico, luteolina, apigenina, nepetoidina, xantomicro, nevadensina, salvigenina, ácido oleanólico, ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido elágico, epicatequina, quercetina, rutina e kaempferol.

O ácido rosmarínico, cuja estrutura é apresentada na Figura 2, é um éster do ácido cafeico e de um fenilpropanoide. Está presente em plantas da família Lamiaceae (como alecrim, sálvia, manjerição, menta e outras) e da família Boraginaceae. Possui massa molar de $360,3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Noor *et al.*, 2022).

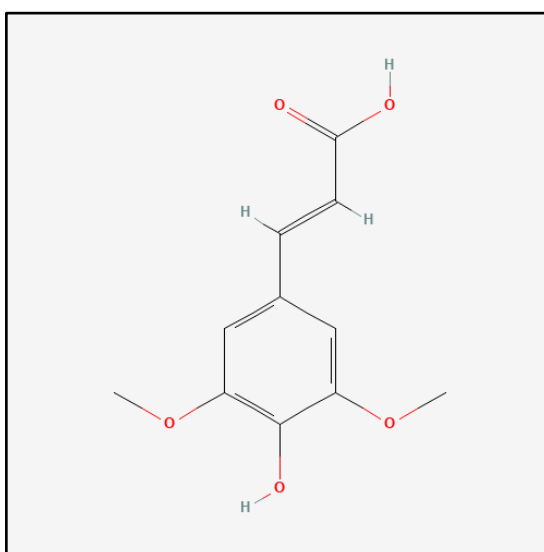
Figura 2 – Estrutura do ácido rosmarínico



Fonte: adaptado de NCBI (2023)

O ácido sinapínico, cuja estrutura é apresentada na Figura 3, é um derivado do ácido hidroxicinâmico que pode se apresentar de forma livre ou como éster. Tem a propriedade de formar dímeros consigo mesmo ou com o ácido ferúlico. É encontrado numa diversidade de alimentos, como trigo, arroz, temperos, frutas cítricas, cereais e vinagre. Possui massa molar de 224,21 g·mol⁻¹ (Pandi e Kalappan, 2021).

Figura 3 – Estrutura do ácido sinapínico



Fonte: adaptado de NCBI (2023)

2.2. PROCESSAMENTO DE PLANTAS MEDICINAIS

2.2.1. Secagem de plantas medicinais

Espécies de lamiáceas frescas geralmente possuem de 75 a 80% de água, entretanto, esse teor deve ser reduzido para menos de 15% como forma de preservação do material. A secagem é essencial para inibir o crescimento de microrganismos e minimizar as reações de deterioração, bem como contribui para o armazenamento e o transporte da matriz vegetal. Ainda assim, o processo de secagem não deve causar mudanças físicas, estruturais, químicas e nutricionais significativas que afetem a utilização industrial ou farmacêutica da planta (Djendoubi Mrad *et al.*, 2012; Hossain *et al.*, 2010; Rocha, Melo e Radünz, 2011).

2.2.2. Extração de compostos bioativos

O processo de extração de compostos bioativos é o passo inicial para a utilização dos fitoquímicos na preparação de suplementos, produtos farmacêuticos e cosméticos. O isolamento destes compostos pode ser realizado por diversas técnicas, cada qual com suas vantagens e desvantagens. Um protocolo universalmente aplicável para a extração de polifenóis de plantas seria difícil de estabelecer devido à diversidade de estrutura e composição dos compostos fenólicos (Dai e Mumper, 2010; Onyebuchi e Kavaz, 2020).

Segundo Alara, Abdurahman e Ukaegbu (2021), os métodos convencionais de extração incluem:

- a. Maceração: é um processo simples em que a matriz vegetal é mergulhada no solvente, sob agitação constante ou esporádica e temperatura ambiente. Sofre desvantagem de ser um processo demorado e envolver grande volume de solvente.
- b. Infusão: é uma modificação do processo de maceração, em que a embebição da planta é executada por um curto período, em solvente previamente ebulido, seguida por repouso da mistura.

- c. Digestão: é outra modificação da maceração, consiste em um processo de aquecimento do solvente contendo a matriz vegetal, de modo que temperatura não afete os compostos bioativos.
- d. Decocção: é mais uma modificação da maceração, em que é feita a ebulição do solvente com a planta por um curto período, seguida por repouso da mistura. É recomendado para extração de fitoquímicos termicamente estáveis e solúveis em água.
- e. Percolação: é um processo em que se despeja solvente na amostra em uma espécie de peneira. Além de ser demorado e envolver grande volume de solvente, o tamanho de partícula é um fator limitante para o processo.
- f. Extração sequencial por exaustão: é um processo de fracionamento do extrato pela variação da polaridade dos solventes utilizados, indo de um solvente não polar para um solvente polar. É utilizada para obter ampla variedade de fitoquímicos.
- g. Extração por método de Soxhlet: é um processo que utiliza solventes orgânicos voláteis, que entram em contato com a amostra envolta em material poroso na câmara de extração. Por permitir refluxo, apresenta vantagem de ser realizado em menos tempo e com utilização de menos solvente, ao comparar com outros processos convencionais.

A extração por solventes é comumente utilizada para preparar extratos de plantas devido à facilidade de uso, eficiência e ampla aplicabilidade. O rendimento do processo de extração geralmente depende do tipo de solvente, do tempo de extração, da temperatura de operação, da razão sólido-líquido utilizada e das características físico-químicas da amostra. Estas variáveis podem atuar de forma independente ou dependente para afetar a eficiência do processo (Dai e Mumper, 2010; Onyebuchi e Kavaz, 2020).

Solventes como metanol, etanol, água, acetona, acetato de etila, clorofórmio e suas combinações têm sido usados na extração de compostos fenólicos de matrizes vegetais, a depender das moléculas de interesse. Metanol é descrito como mais eficiente para extrair compostos de baixo peso molecular, enquanto acetona é melhor extrator para compostos de alto peso molecular, como flavanóis. Já para o trabalho

com antocianinas, faz-se uso de um solvente orgânico acidificado. Entretanto, após a extração com solventes orgânicos, estes precisam ser completamente removidos do produto, o que pode restringir a utilização para algumas aplicações. A água, por sua vez, desponta como um solvente de baixo custo e atóxico, que encontra boa aceitação nas aplicações farmacêuticas e alimentícias (Alara, Abdurahman e Ukaegbu, 2021; Dai e Mumper, 2010; Kumar, Thakur e De, 2012).

Segundo Alara, Abdurahman e Ukaegbu (2021), os métodos não-convencionais de extração incluem:

- a. Extração assistida por micro-ondas: é um processo que utiliza a energia da radiação de micro-ondas para aquecer a mistura solvente-soluto e facilitar a difusividade do solvente na amostra. É utilizada para extração de polifenóis de cadeia curta como ácidos fenólicos e flavonoides.
- b. Extração assistida por ultrassom: é um processo que faz uso da perturbação criada pela propagação de ondas ultrassônicas para aumentar a difusão dos fitoquímicos no solvente.
- c. Extração assistida por enzimas: é um processo que faz uso de enzimas para enfraquecer a parede celular da matriz vegetal e expor o conteúdo para extração. É considerado um método sustentável pela utilização de água como solvente extrator.
- d. Extração com fluido pressurizado: é um processo que requer alta temperatura e alta pressão para operar a extração. É um método utilizado para extração de corantes naturais e apresenta como vantagem a pureza do extrato obtido.
- e. Extração com CO₂ supercrítico: é um processo que utiliza CO₂ como fluido supercrítico, por ser um solvente não tóxico, não inflamável e apresentar alta pureza. A possibilidade de operação a baixa temperatura e alta pressão resguarda os compostos bioativos termossensíveis.

2.3. PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

As etapas de separação, concentração e purificação de compostos presentes em uma mistura são críticas no processamento industrial. A utilização de membranas

possibilita realizar estes processos de maneira mais rápida, mais econômica e mais eficiente que métodos de separação convencionais (Strathmann, 1981).

Uma membrana pode ser definida como uma barreira semipermeável que separa duas fases e restringe o movimento das espécies químicas ali presentes. O que acontece é uma transferência seletiva e controlada de um composto de uma fase para outra, por ação de uma força externa (Obotey Ezugbe e Rathilal, 2020; Takht Ravanchi, Kaghazchi e Kargari, 2009).

Para que haja transporte de uma espécie através da membrana, uma força motriz deve agir sobre o sistema. Esta geralmente se caracteriza pelo gradiente de potencial químico, expresso em termos de pressão, de concentração e de temperatura, ou pelo gradiente de potencial elétrico (Habert, Borges e Nobrega, 2006).

Segundo Takht Ravanchi, Kaghazchi e Kargari (2009), a categorização dos processos de separação por membranas com base na força motriz descreve:

- a. Processos regidos pela diferença de pressão: microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose reversa e piezodiálise.
- b. Processos regidos pela diferença de concentração: separação de gases, pervaporação, difusão facilitada e diálise.
- c. Processos regidos por diferença de temperatura: destilação por membrana.
- d. Processos regidos por diferença de potencial elétrico: eletrodiálise.

O tipo de aplicação e a eficiência de separação são definidos não só por características estruturais, como a morfologia da membrana e a natureza do material que a constitui, mas também pelas propriedades de transporte, como a permeabilidade a gases e líquidos, e pela capacidade seletiva, que são parâmetros do processo (Habert, Borges e Nobrega, 2006).

Segundo Habert, Borges e Nobrega (2006), as vantagens inerentes à tecnologia dos processos de separação por membranas incluem a economia de energia; a seletividade; a possibilidade de operação em temperatura ambiente e, consequentemente, a aplicação do processo para compostos termossensíveis; a simplicidade de operação, o que exclui a necessidade intensiva de mão de obra; e a facilidade de escalonamento.

Em termos de fabricação, as membranas podem ser desenvolvidas a partir de materiais orgânicos, que na maioria dos casos são polímeros sintéticos, e de materiais inorgânicos (Obotey Ezugbe e Rathilal, 2020). Os principais materiais que compõem membranas poliméricas e as classes dos materiais que compõem membranas inorgânicas são apresentados no Quadro 2:

Quadro 2 – Materiais empregados na fabricação de membranas

Materiais poliméricos	Materiais não-poliméricos
Acetato de celulose (AC)	Cerâmicas
Polissulfona (PSU)	Vidro
Polietersulfona (PES)	Zeólitas
Poliacrilonitrila (PAN)	Carbono
Polieterimida (PEI)	Derivados de carbono
Policarbonato (PC)	Metais
Politetrafluoretileno (PTFE)	Óxidos metálicos
Fluoreto de polivinilideno (PVDF)	

Fonte: adaptado de Habert, Borges e Nobrega (2006); Obotey Ezugbe e Rathilal (2020)

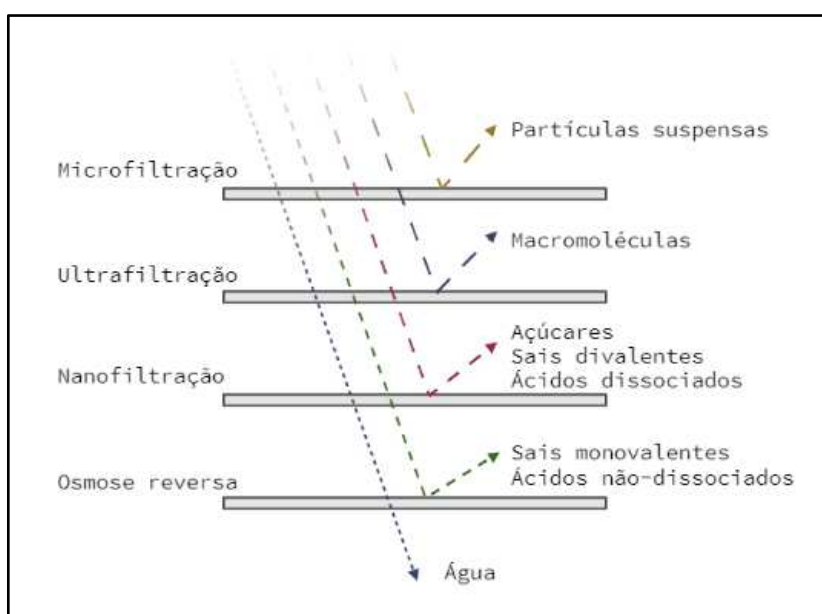
A polietersulfona (PES), por exemplo, é um polímero aromático de alta performance. É considerado um material termoplástico amorfo, que apresenta absorção de água relativamente alta, se comparado com outros polímeros hidrofóbicos, além de alta resistência mecânica e estabilidade térmica (McKeen, 2006).

2.3.1. Processos baseados na diferença de pressão

Os principais processos de separação que utilizam pressão como força motriz são ilustrados na Figura 4. Nos processos de micro, ultra e nanofiltração, a solução é

levada por convecção até a superfície da membrana microporosa. Com aplicação da força motriz, na forma de diferença de pressão hidrostática, o solvente e as partículas pequenas de soluto atravessam a membrana, enquanto as partículas maiores são rejeitadas pela membrana e são concentradas. A corrente que atravessa a membrana é denominada permeado ou filtrado, e a corrente que é rejeitada pela membrana é denominada retentado ou concentrado. Na maioria dos casos, partículas e macromoléculas retidas pela membrana tendem a precipitar e formar uma camada de torta ou gel na superfície da membrana (Strathmann, 1981).

Figura 4 – Processos de separação baseados na diferença de pressão



Fonte: adaptado de Cheryan (1998) e criado em *BioRender.com*

A microfiltração (MF) é um processo capaz de remover partículas micrométricas. As membranas de microfiltração possuem poros com diâmetro entre 0,1 e 10 μm e, por serem relativamente abertas, operam em pressões entre 0,5 e 3 bar. As aplicações da microfiltração englobam esterilização bacteriana e clarificação de vinhos e cervejas (Habert, Borges e Nobrega, 2006; Strathmann, 1981).

A ultrafiltração (UF) é um processo utilizado para purificar suspensões coloidais e soluções com partículas de grande massa molecular, geralmente variando entre 1 e 1000 kDa. As membranas de ultrafiltração possuem poros com diâmetro entre 10 e

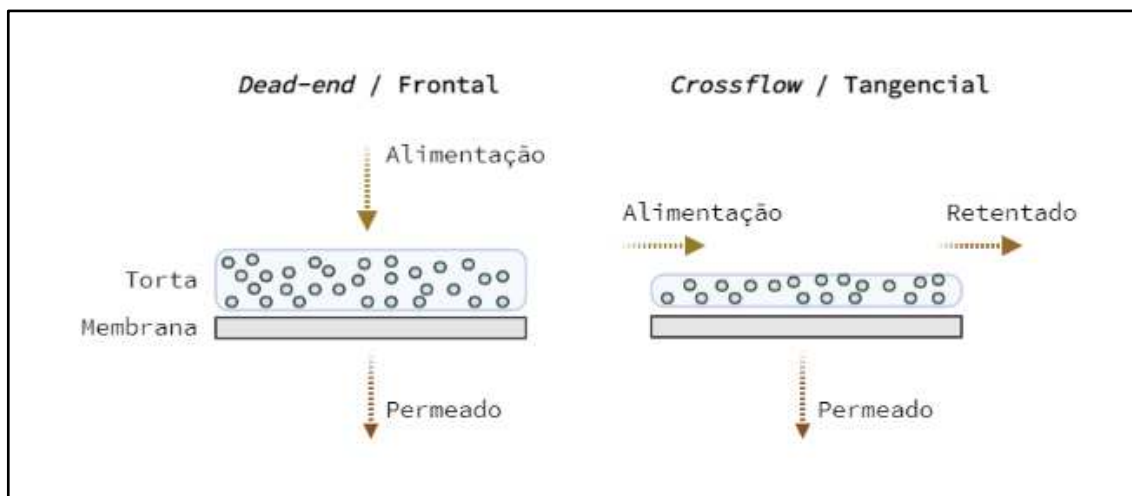
100 nm e operam em pressões entre 1 e 10 bar. As aplicações da ultrafiltração incluem concentração de proteínas e recuperação de óleos e pigmentos. Convencionalmente, as membranas de ultrafiltração não são descritas pelo tamanho de poro, mas segundo uma curva de retenção nominal (MWCO, do inglês “*molecular weight cutoff*”), que relaciona o coeficiente de rejeição com a massa molecular do composto de interesse. A retenção nominal de uma membrana, portanto, pode ser definida pelo valor de massa molecular de soluto para o qual a membrana apresenta coeficiente de rejeição de 95%. Por exemplo, uma membrana com MWCO de 10 kDa é capaz de rejeitar 95% das moléculas que se encontram em uma solução de soluto com massa de 10 kDa (Habert, Borges e Nobrega, 2006; Strathmann, 1981).

A nanofiltração (NF) é um processo capaz de separar sais e solutos orgânicos de massa molecular maior que 500 Da. As membranas de nanofiltração possuem poros com diâmetro entre 1 e 10 nm e operam em pressões entre 5 e 25 bar. As aplicações da nanofiltração englobam purificação de enzimas e utilização em biorreatores (Habert, Borges e Nobrega, 2006).

A osmose reversa (OR) é um processo que faz uso de uma membrana permeável ao solvente, mas impermeável ao soluto. No sistema, a diferença de pressão hidrostática deve superar a diferença de pressão osmótica para que o solvente consiga fluir da solução com maior concentração para a solução com menor concentração. As membranas de osmose reversa operam em pressões entre 20 e 100 bar e encontram aplicações nos processos de dessalinização (Strathmann, 1981).

Os módulos de filtração podem operar sob duas formas: *dead-end* (filtração frontal) ou *cross-flow* (filtração tangencial), como ilustrado na Figura 5. Na filtração frontal, a alimentação é inserida perpendicularmente à membrana. Nesta operação, apenas uma corrente entra no módulo (alimentação) e uma corrente sai do módulo (permeado). Na filtração tangencial, a alimentação é inserida paralelamente à membrana. Nesta operação, uma corrente entra no módulo (alimentação) e duas correntes saem do módulo (permeado e retentado). Na operação tangencial os sólidos são mantidos em suspensão, resultando em menor formação de torta e consequentemente menor resistência da torta (Cheryan, 1998).

Figura 5 – Modos de operação da filtração: *dead-end* (A) e *cross-flow* (B)



Fonte: adaptado de Cheryan (1998) e criado em *BioRender.com*

2.3.2. Aplicações dos processos de separação por membranas

O uso de membranas para aplicações mais sustentáveis em vários segmentos da indústria de alimentos tem despontado como alternativa aos processos convencionais de separação, devido ao menor consumo energético, à redução de etapas de processamento e à possibilidade de manutenção de características sensoriais e nutricionais dos alimentos (Teodoro *et al.*, 2022). Encontram-se na literatura diversos trabalhos que apresentam as possibilidades de aplicação dos processos de separação por membranas, tais como a aplicação para clarificação, purificação e concentração de extratos de matrizes vegetais.

No trabalho desenvolvido por Chhaya *et al.* (2012), estudou-se a clarificação do extrato de estêvia por processo de ultrafiltração com membranas de 5, 10, 30 e 100 kDa. Os autores justificaram que, dentre as membranas testadas, a de melhor aplicação foi a membrana de 30 kDa. Observaram que, com o aumento da pressão transmembrana, houve maior seletividade do composto de interesse, porém isso não refletiu em maior pureza.

O processo sequencial de micro, ultra e nanofiltração foi empregado por Magalhães *et al.* (2019) para clarificar e concentrar extrato de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). Os autores concluíram que a microfiltração conseguiu reduzir 50% do teor de sólidos totais e 65% do teor de lipídeos totais. Também ressaltaram que a

ultrafiltração foi eficiente para reter moléculas maiores, como o ácido elágico, enquanto a nanofiltração reteve a menor das moléculas de interesse, o ácido p-cumárico.

No trabalho de Balyan, Verma e Sarkar (2019), a clarificação do extrato de folhas de jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) foi avaliada pelo processo de microfiltração. Os autores relataram que a clarificação foi obtida, embora o aumento de pureza não tenha sido alcançado. Concluíram que, dentre as membranas testadas, a membrana de 0,45 µm teve o melhor rendimento na redução dos sólidos insolúveis em álcool (56%).

O processo de nanofiltração foi utilizado por Peshev *et al.* (2011) para concentrar os ácidos rosmarínico e cafeico de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). Os autores relataram que o processo possibilitou uma separação parcial entre os ácidos fenólicos.

Na pesquisa desenvolvida por Gerke *et al.* (2017), foram avaliados os processos de microfiltração, com membrana polimérica e cerâmica, e de ultrafiltração, com membrana polimérica, para clarificar o extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). O objetivo foi reduzir a turbidez do extrato para destiná-lo à indústria alimentícia. Os autores concluíram que todas as membranas testadas reduziram a turbidez a níveis próximos de zero. Relataram ainda que a menor perda de compostos bioativos ocorreu na microfiltração com membrana polimérica.

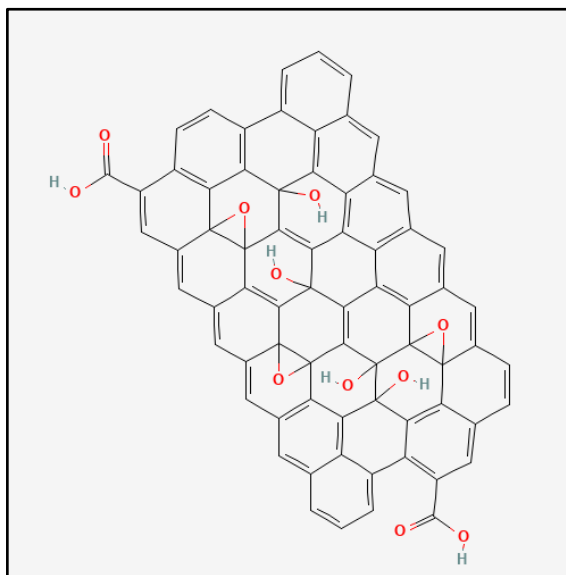
2.4. ÓXIDO DE GRAFENO

Os materiais baseados em carbono, como nanotubos de carbono, grafeno e óxido de grafeno (OG), têm mostrado potencial na aplicação em processos de separação por membranas, devido à boa resistência mecânica, à alta resistência a meios ácidos e alcalinos e a solventes orgânicos, e à fácil disponibilidade (Ma, Ping e Dong, 2017).

O óxido de grafeno é um material bidimensional (2D), derivado da estrutura principal do grafeno, que pode ser visto como uma camada única monomolecular. É constituído por vários grupos oxigenados no plano e nas bordas, o que confere ao material boa hidrofilicidade e o torna favorável para uso em meios aquosos (Dimiev,

2016; Ma, Ping e Dong, 2017). Um modelo proposto para a estrutura do óxido de grafeno é apresentado na Figura 6.

Figura 6 – Modelo proposto para o óxido de grafeno e seus grupos funcionais



Fonte: adaptado de NCBI (2023)

Diferentemente do grafeno original, o OG pode ser visto como um nanomaterial isolante elétrico. Entretanto, ainda mantém várias características relevantes, como alta resistência mecânica, alta inércia química, superfície quase sem fricção, boa flexibilidade, além de possuir custo efetivo de produção (Dimiev, 2016; Ma, Ping e Dong, 2017).

O processo de síntese do OG contempla duas etapas: oxidação do grafite e esfoliação do óxido de grafeno. Um dos métodos mais utilizados para a síntese do óxido de grafeno, o de Hummers modificado, utiliza permanganato de potássio (KMnO_4) como agente oxidante, combinado com uma mistura de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado e sal nitrato de sódio (NaNO_3) (Ma, Ping e Dong, 2017).

A fim de verificar se a síntese do OG foi efetiva e identificar sua estrutura química, algumas técnicas de caracterização podem ser empregadas. A morfologia e o tamanho de partícula podem ser obtidos por microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia de força atômica

(AFM). Em relação à estrutura química, faz-se uso de espectroscopia Raman, difração de raios X (DRX) e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A estabilidade térmica pode ser avaliada por análise termogravimétrica (TGA) (Ma, Ping e Dong, 2017).

2.4.1. Membranas de óxido de grafeno

O óxido de grafeno é um material promissor para fabricação de membranas de nanofiltração devido à formação de canais exclusivos que possibilitam alto fluxo. As membranas agem como barreiras seletivas devido aos efeitos de rejeição por tamanho, interação soluto-OG e repulsão elétrica (Kong *et al.*, 2020).

Os filmes de OG podem ser aplicados nas membranas de separação, no recobrimento de superfícies, em eletrônicos flexíveis, em atuadores de escala micro e nano, e em fibras de alta resistência. As membranas de OG, por sua vez, podem ser aplicadas para separação de gases, purificação de água, dessalinização e pervaporação (Ma, Ping e Dong, 2017; Ye e Feng, 2016).

Segundo Ma, Ping e Dong (2017), os métodos de fabricação das membranas de óxido de grafeno incluem:

- a. Métodos dependentes de filtração: a vácuo ou sob pressão, estes permitem bom controle sobre a espessura da membrana de OG.
- b. Métodos de deposição ou revestimento: por gotejamento, por pulverização, por imersão ou por rotação, estes apresentam deposição não uniforme da nanocamada e não permitem bom controle da espessura da membrana.
- c. Métodos de sobreposição de camadas: estes possibilitam fácil controle da montagem e da espessura das camadas de OG.
- d. Métodos baseados em evaporação: estes permitem fácil controle da espessura e da área da membrana de OG.

Assim como a avaliação após a síntese, a caracterização das membranas de OG também permite identificar sua estrutura e determinar as propriedades de separação. As características da superfície, a morfologia da seção transversal e a espessura da membrana podem ser obtidas por MEV, MET e AFM combinados. A composição química e a microestrutura da membrana podem ser determinadas por

DRX, Raman e FTIR. Para se ter ideia do potencial de aplicação da membrana, podem ser realizados ensaios de ângulo de contato (AC), de potencial Zeta da superfície, de TGA e testes mecânicos (Ma, Ping e Dong, 2017).

Dentre as aplicações, Kong *et al.* (2020) utilizaram membrana de PVDF revestida com nanofolhas de OG para investigar a remoção de 3 fármacos. Os autores relataram que a taxa de remoção dos compostos foi muito dependente das características da membrana, como tipo do revestimento e concentração da solução de OG, e influenciada pelo pH do meio.

Kumar, Garg e Chowdhuri (2019) avaliaram a deposição de OG em PVDF para aplicações na purificação de água. Os autores perceberam que tempos baixos (10 min) de sonicação durante o preparo da membrana são suficientes para formar uma estrutura compacta e ordenada e causar aumento na remoção de corantes.

Na pesquisa desenvolvida por Ribeiro *et al.* (2022), a utilização de fibra oca de espinélio revestida com OG para purificação de hidrogênio (H_2) foi avaliada. Os autores perceberam que a membrana apresentou permeação satisfatória de H_2 ($8,2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{Pa}^{-1}$ em temperatura ambiente) e boa seletividade para H_2/N_2 ($3,3 \pm 0,0$) e H_2/CO_2 ($11,4 \pm 0,1$).

De modo a melhorar a performance de separação das membranas, é possível aplicar tratamentos físicos ou químicos. Dentre as abordagens físicas, pode-se: controlar o tamanho das nanofolhas de OG e da espessura da membrana de OG; alterar o pH da solução de trabalho; e controlar as condições de fabricação da membrana. Dentre as abordagens químicas, pode-se: promover mudança na estrutura da membrana por meio da redução do OG em óxido de grafeno reduzido (rGO); intercalar grupos químicos na membrana; e funcionalizar as folhas de OG (Ma, Ping e Dong, 2017).

3. METODOLOGIA

3.1. MATERIAIS

3.1.1. Processamento da matéria-prima

Os ramos folhosos de *Ocimum gratissimum* L. foram colhidos em Morrinhos - GO, em março de 2022. As folhas destacadas dos ramos foram secas à temperatura ambiente e em local escuro por 7 dias. Depois de secas, as folhas foram trituradas em *mixer* doméstico por 2 min, até atingir tamanho médio de partícula de 2,0 mm, armazenadas em sacos de polietileno e guardadas em local escuro (Onyebuchi e Kavaz, 2020). Amostras comerciais de alfavaca (*Ocimum basilicum*), secas e trituradas, foram obtidas no comércio de Goiânia - GO, em fevereiro de 2022.

3.1.2. Reagentes

Para as análises colorimétricas foram utilizados: reagente de Folin-Ciocalteu (Cromoline Química Fina); carbonato de sódio (Na_2CO_3 , PA, teor 99%, Cinética); ácido gálico (PA, ACS, teor 98%, Dinâmica Química Contemporânea); radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila, Sigma-Aldrich®); álcool metílico (CH_3OH , PA, ACS, teor 99,8%, Isofar); trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, teor 97%, Sigma-Aldrich®); radical ABTS (sal de diamônio 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato), teor 98%, Sigma-Aldrich®); álcool etílico absoluto ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$, PA, teor 99,5%, Êxodo Científica); persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, PA, ACS, Synth®).

Para as análises cromatográficas foram utilizados: ácido cafeico (teor $\geq 98\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich®); ácido clorogênico (teor $\geq 95\%$ (titulação), Sigma-Aldrich®); ácido elágico (teor $\geq 95\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich®); ácido (trans)-ferúlico (teor $\geq 99\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich®); ácido p-cumárico (teor $\geq 98\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich®); ácido rosmarínico (teor $\geq 98\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich®); ácido sinapínico (teor $\geq 98\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich®); ácido (orto)-fosfórico (H_3PO_4 , teor $\geq 90\%$ (HPLC), Sigma-Aldrich®); metanol (CH_3OH , LiChrosolv®, teor 99,9% (HPLC), Supelco®).

Para a síntese e a deposição do nanomaterial foram utilizados: grafite em pó (< 20 µm, sintético, Sigma-Aldrich®); ácido sulfúrico (H₂SO₄, PA, ACS, teor 98%, Isofar); nitrato de sódio (NaNO₃, PA, teor 98%, Isofar); permanganato de potássio (KMnO₄, PA, teor 99%, Vetec Química Fina); peróxido de hidrogênio (H₂O₂, 30% (v/v), PA, ACS, Dinâmica Química Contemporânea); ácido clorídrico (HCl, PA, ACS, teor 38%, Êxodo Científica); cloridrato de dopamina (Sigma-Aldrich®); tampão Tris (tris(hidroximetil)-aminometano, ACS, teor 99,8%, Dinâmica Química Contemporânea); etilenodiamina (teor ≥ 99%, Sigma-Aldrich®).

3.2. PROCESSO DE EXTRAÇÃO

3.2.1. Extração de compostos bioativos de *Ocimum gratissimum* L.

Para a extração dos compostos fenólicos das folhas de alfavaca-cravo, foram consideradas as investigações de Vuong *et al.* (2011), com modificações. Água destilada foi selecionada como solvente extrator, e foi utilizada a proporção de 1,0 g de folhas para 100 mL de solvente. A extração foi conduzida por 120 min, com utilização de chapa aquecedora (IKA®, C-MAG HS7) e agitação magnética, sob temperatura de 75 °C e agitação de 500 rpm. O extrato obtido foi resfriado até temperatura ambiente e, posteriormente, coado em peneira doméstica, para remoção do substrato residual; filtrado em papel filtro quantitativo de faixa preta, para remoção de partículas grandes; e centrifugado (Beckman Coulter™, Avanti J25) a 8000 rpm por 20 min, para remoção de partículas finas em suspensão. Para conservação, o extrato aquoso bruto foi armazenado sob refrigeração e protegido de luz.

3.2.2. Cinética de extração dos compostos bioativos

A cinética de extração dos compostos fenólicos a 75 °C foi avaliada ao longo de 300 min, com coleta de alíquotas de 3 mL, em intervalos de tempo predeterminados (5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300 min). Para a extração, foram utilizados 5,0 g de folhas e 500 mL de solvente. Assim, a coleta de dados representou menos de 10% do volume total de extrato. Os resultados foram avaliados em função da quantidade de compostos fenólicos totais. O perfil de extração foi ajustado aos

modelos de pseudo-primeira ordem e de pseudo-segunda ordem, como sugerido por Harouna-Oumarou *et al.* (2007). O ajuste foi realizado com auxílio do software OriginPro® 8. A forma não-linearizada para a cinética de pseudo-primeira ordem é apresentada na Equação 1, enquanto a forma não-linearizada para a cinética de pseudo-segunda ordem é apresentada na Equação 2:

$$C_t = C_s \cdot (1 - e^{-k_1 \cdot t}) \quad (1)$$

$$C_t = \frac{k_2 \cdot C_s^2 \cdot t}{1 + k_2 \cdot C_s \cdot t} \quad (2)$$

onde C_t é a concentração de compostos fenólicos em qualquer tempo ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); C_s é a concentração de compostos fenólicos na saturação ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); k_1 é a constante de primeira ordem de velocidade de extração (min^{-1}); k_2 é a constante de segunda ordem de velocidade de extração ($\text{L} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$); t é o tempo de extração (min).

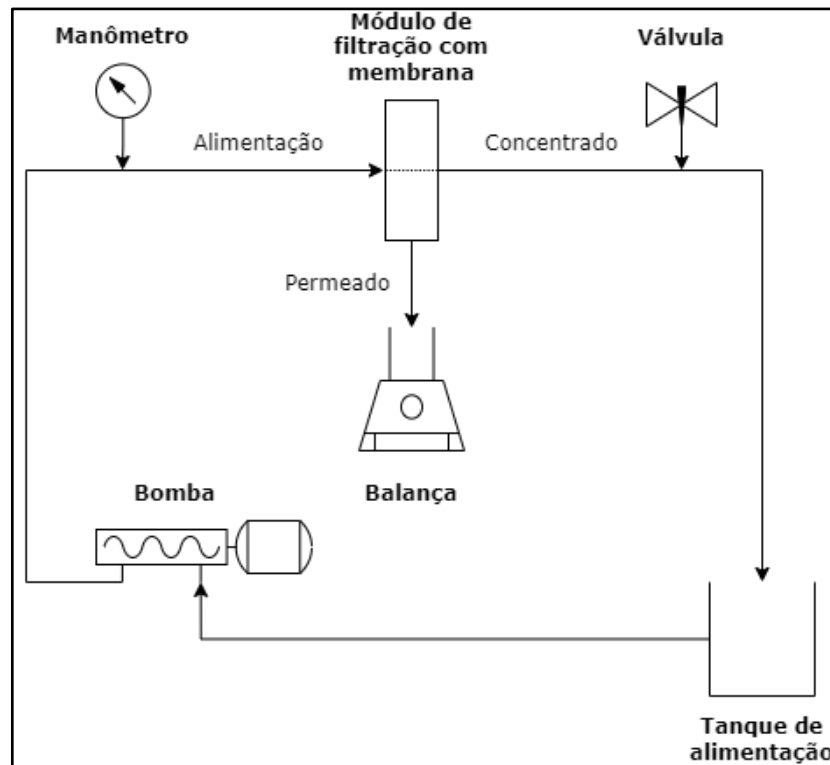
3.3. PROCESSO DE FILTRAÇÃO

3.3.1. Ultrafiltração dos extratos aquosos

O sistema de filtração utilizado nos ensaios consistia em uma bomba helicoidal (Netzsch, NEMO®), um manômetro, um módulo de filtração em aço inoxidável como suporte para a membrana, uma válvula agulha, um tanque de alimentação, uma balança (Bel Engineering, M254A), tubos de poliuretano (cuja pressão máxima de operação é 10 bar) e conexões pneumáticas de engate rápido, como é ilustrado na Figura 7. O módulo de filtração, por sua vez, é apresentado na Figura 8.

Duas membranas de ultrafiltração planas (Microdyn-Nadir®), fabricadas em polietersulfona (PES), foram utilizadas neste trabalho. O tamanho de poro (MWCO) das membranas selecionadas era de 10 kDa (M_{10}) e 150 kDa (M_{150}). Uma terceira membrana foi produzida pelo revestimento da membrana de PES de 150 kDa com uma solução de OG/EDA $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (M_{Rev}). A área de filtração efetiva considerada foi de $3,8 \cdot 10^{-3} \text{ m}^2$. O módulo de filtração operou em fluxo cruzado (*cross-flow*) e sob temperatura ambiente.

Figura 7 – Diagrama do sistema de filtração utilizado nos ensaios



Fonte: o autor

Figura 8 – Destaque do módulo de filtração e da membrana plana



Fonte: o autor

O fator de concentração (F_c), utilizado como indicador do tempo mínimo necessário de filtração, é descrito pela Equação 3:

$$F_C = \frac{V_A}{V_A - V_P} \quad (3)$$

onde V_A é o volume da corrente de alimentação (mL); V_P é o volume da corrente de permeado (mL). De forma geral, F_C foi estipulado como 2,0. Para os casos em que o fator de concentração não pôde ser alcançado, o tempo mínimo de operação foi fixado em 210 min.

Durante a operação de ultrafiltração, o permeado foi coletado continuamente e a massa dessa corrente foi registrada. Uma curva de fluxo de permeado (J_P) por tempo (t) foi obtida para cada filtração. O fluxo de permeado pode ser descrito segundo a Equação 4:

$$J_P = \frac{V_P}{A \cdot t} \quad (4)$$

onde V_P é o volume de permeado coletado (L); A é a área de filtração da membrana (m^2); t é o tempo de filtração (h).

Anteriormente à operação de filtração, as membranas de PES foram compactadas por 90 min pela passagem de água ultrapura (tipo 1, Direct-Q® 3) no sistema e aplicação de pressão superior à pressão de operação. Em seguida, foram realizadas medidas de permeabilidade hidráulica, pela medição do fluxo de permeado em diferentes pressões. O valor da permeabilidade pode ser obtido pelo coeficiente angular da reta ajustada aos dados experimentais de fluxo de permeado por pressão. Os valores de pressão de compactação da membrana, pressão transmembrana de filtração e faixa de pressão durante a medida de permeabilidade hidráulica são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de pressão utilizados na compactação e na operação das membranas

Membrana	P de compactação (bar)	P de operação (bar)	Faixa de P para medição de permeabilidade (bar)
M₁₀	6,0	5,0	0,5 – 6,0
M₁₅₀	3,0	1,0	0,4 – 3,0
M_{Rev}	9,0	8,0	2,0 – 9,0

Fonte: o autor

3.3.2. Modelo de decaimento de fluxo

O modelo de decaimento de fluxo foi utilizado para avaliar o comportamento do fluxo de permeado durante a filtração. Segundo Field e Wu (2011), o fluxo pelo tempo pode ser descrito pela Equação 5 genérica:

$$-\frac{dJ_P}{dt} = k_n \cdot (J_P - J_S) \cdot J^{2-n} \quad (5)$$

onde J_P é o fluxo de permeado ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$); J_S é o fluxo obtido no estado estacionário ($L \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$); t é o tempo de filtração (h); k é a constante de entupimento na operação *cross-flow*; o índice n representa o mecanismo de incrustação predominante, conforme Quadro 3. Além da forma genérica, o modelo pode ser expresso de forma isolada em termos do índice n e até de forma linearizada. O ajuste aos dados experimentais foi realizado para cada valor de n e, para solucionar as equações, foi utilizado o método de Runge-Kutta de ordem 4.

Quadro 3 – Mecanismos de entupimento das membranas

<i>n</i>	<i>Mecanismo</i>
0	<i>Formação de torta</i>
1	<i>Bloqueio parcial dos poros</i>
1,5	<i>Bloqueio interno dos poros</i>
2	<i>Bloqueio completo dos poros</i>

Fonte: adaptado de Field e Wu (2011)

3.3.3. Modelo de resistências em série

O modelo de resistências em série foi utilizado como ferramenta para descrever o processo de incrustação ou entupimento, assim como avaliado por Sun *et al.* (2018) e Wang *et al.* (2012). A resistência total (R_T) combina as várias resistências que causam declínio do fluxo, sendo: a resistência hidráulica da membrana (R_M), a resistência de formação de torta (R_C), a resistência de adsorção ou entupimento de

poros (R_A) e a resistência de polarização por concentração (R_P), como descrito na Equação 6:

$$R_T = R_M + R_C + R_A + R_P \quad (6)$$

Para o cálculo de cada uma das contribuições, primeiramente, R_M foi estimada pela medida do fluxo de água ultrapura através da membrana limpa, como indicado na Equação 7:

$$R_M = \frac{\Delta P}{\mu \cdot J_0} \quad (7)$$

onde ΔP é a pressão transmembrana (Pa); μ é a viscosidade da água a 25 °C (Pa·s) e J_0 é o fluxo de água através da membrana ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$). Nesta primeira medição, as contribuições de R_C , R_A e R_P são consideradas nulas.

Em seguida, foi realizada a filtração do extrato de alfavaca-cravo, e o fluxo de permeado foi registrado durante o processo, tornando possível o cálculo de R_T , como indicado na Equação 8:

$$R_T = \frac{\Delta P}{\mu \cdot J_S} \quad (8)$$

onde J_S pode ser considerado o fluxo de permeado no estado estacionário ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$).

Após a passagem do extrato, foi feita uma medida do fluxo de água ultrapura através da membrana usada, a fim de determinar a soma (R_1) das resistências R_M , R_C e R_A , como indicado na Equação 9:

$$R_1 = R_M + R_C + R_A = \frac{\Delta P}{\mu \cdot J_1} \quad (9)$$

onde J_1 é o fluxo de água no estado estacionário através da membrana após filtração ($\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$). Nesta medição, a contribuição R_P é considerada nula.

De posse desses valores, R_P pôde ser obtido pela subtração entre R_T e R_1 . Em seguida, a membrana foi limpa por remoção manual da torta, e foi feita uma nova medida do fluxo de água ultrapura através da membrana, para cálculo de R_2 , como indicado na Equação 10:

$$R_2 = R_M + R_A = \frac{\Delta P}{\mu \cdot J_2} \quad (10)$$

onde R_2 é a soma entre as resistências da membrana (R_M) e do entupimento de poros (R_A); e J_2 é o fluxo de água através da membrana sem a torta ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$). Nesta medição, as contribuições de R_C e R_P são consideradas nulas.

Por fim, foi possível encontrar os valores de R_A e de R_C pelas Equações 11 e 12, respectivamente:

$$R_A = R_2 - R_M \quad (11)$$

$$R_C = R_1 - R_2 \quad (12)$$

3.4. PROCESSO DE MODIFICAÇÃO DA MEMBRANA

3.4.1. Síntese do óxido de grafeno

A síntese do óxido de grafeno seguiu uma rota baseada nas metodologias propostas por Guerrero-Contreras e Caballero-Briones (2015) e por Ribeiro *et al.* (2022), ambas modificações do método de Hummers de oxidação de pó de grafite.

Uma mistura de 1,0 g de grafite em pó, 23 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) e 0,5 g de nitrato de sódio (NaNO_3) foi preparada em um béquer de 250 mL sob agitação mecânica vigorosa por 5 min. O frasco foi mantido em banho de gelo, de modo a controlar a temperatura em torno de 5 °C. Então, 3,0 g de permanganato de potássio (KMnO_4) foram adicionados vagarosamente ao béquer, e a suspensão foi mantida sob agitação e resfriamento por 2 h.

Na sequência, a vidraria foi retirada do banho de gelo e levemente aquecida em chapa aquecedora (IKA®, C-MAG HS7), de modo que a temperatura do sistema fosse elevada até aproximadamente 35 °C. A suspensão foi mantida sob agitação mecânica vigorosa por 30 min. O béquer foi retornado ao banho de gelo, de modo a prevenir um possível aumento brusco de temperatura pela adição de água à mistura ácida. Uma quantidade de 46 mL de água ultrapura (tipo 1, Direct-Q® 3) foi vagarosamente adicionada à mistura, que foi mantida sob agitação por 30 min.

Com cuidado, a suspensão foi transferida para um béquer de 500 mL, onde 140 mL de água ultrapura e 10 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30% (v/v) foram

adicionados para interromper a reação. Ao final, o produto esperado possuía uma coloração amarelada ou marrom brilhante.

A suspensão foi lavada por 5 vezes com 200 mL de uma solução de ácido clorídrico (HCl) 5% (v/v), e o sólido foi recuperado por filtração a vácuo. A lavagem com água utilizou água destilada levemente aquecida (40 °C), e a separação do sólido foi realizada com centrifugação (Beckman Coulter™, Avanti J25) a 5000 rpm. O sólido precipitado foi seco a 60 °C em estufa (Biomatic) por 24 h e armazenado para futuras investigações.

3.4.2. Esfoliação do óxido de grafeno

A esfoliação das amostras de óxido de grafeno, no grupo de pesquisa do Laboratório de Processos de Separação por Membranas, usualmente é realizada em banho ultrassônico logo após a etapa de síntese, de modo a descamar as folhas do material produzido e reduzir sua espessura.

Durante o período do estágio de pesquisa em Montréal, foram propostas também a utilização da sonda ultrassônica para esfoliação e a investigação da influência das condições de sonicação (tempo, amplitude e modo pulsado) nas propriedades das membranas compósitas de óxido de grafeno.

Para uma investigação sistêmica destas variáveis, foi elaborado inicialmente um planejamento fatorial 2^k , como ilustrado na Tabela 2. A partir do óxido de grafeno seco, uma suspensão em água destilada a $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ foi preparada. Em cada ensaio da esfoliação com sonda ultrassônica (Sonics®, processador VC 505, conversor CV 334, ponteira de 13 mm), uma alíquota de 50 mL da suspensão foi colocada em um béquer, e a sonda foi inserida na amostra líquida. Após a execução da sonicação seguindo o tempo, a amplitude e o modo indicados no planejamento experimental, a amostra líquida foi armazenada e levada para caracterização.

Tabela 2 – Variáveis do planejamento experimental para esfoliação de amostras de óxido de grafeno

Nível	Tempo (min)	Amplitude (%)	Modo
-1	10	25	Contínuo
+1	30	55	Pulsado

Fonte: o autor

3.4.3. Deposição de óxido de grafeno na membrana

Seguindo a metodologia proposta por Kong *et al.* (2020), a deposição de óxido de grafeno na membrana de PES de 150 kDa seguiu duas etapas: o pré-tratamento da membrana com dopamina e a filtração de uma solução de óxido de grafeno - etilenodiamina (OG/EDA) pela membrana. A solução de dopamina $0,01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ utilizada para o pré-tratamento foi preparada pela solubilização de cloridrato de dopamina em uma solução tampão Tris/HCl (pH = 8,5). Após 4 h de imersão na solução de dopamina, a membrana foi enxaguada com água ultrapura para remover a dopamina não aderida.

Para o preparo da suspensão de OG/EDA, uma suspensão estoque de OG $2,02 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ foi fornecida pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Processos de Separação por Membranas e recebeu esfoliação mecânica em banho ultrassônico (Eco-Sonics, Q9.5L) por 30 min. A suspensão foi então diluída para $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e recebeu a adição de 5% (m/m) de EDA (Zhou *et al.*, 2019). Depois de homogeneizada, a suspensão foi centrifugada a 8000 rpm por 30 min, para utilização apenas do sobrenadante na etapa de filtração.

A membrana M_{150} previamente coberta com dopamina foi inserida em um sistema de filtração a vácuo, onde a solução de OG/EDA foi filtrada por 15 vezes, de modo que o volume de solução preparado era filtrado e recuperado para nova rodada de filtração. Após a filtração, a membrana revestida com óxido de grafeno (M_{Rev}) foi levada para secar em estufa (Thoth, TH-510) a 37°C por 12 h.

3.4.4. Caracterização do óxido de grafeno e da membrana revestida

Para a caracterização das amostras de óxido de grafeno sintetizadas, foram empregadas as seguintes técnicas: espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier com refletância total atenuada (FTIR-ATR); e espectroscopia Raman (RAMAN).

Após a esfoliação das amostras de óxido de grafeno, a caracterização foi realizada pela técnica de: microscopia de força atômica (AFM).

A membrana de PES de 150 kDa revestida com OG/EDA foi caracterizada por: microscopia eletrônica de varredura (MEV); microscopia de força atômica (AFM); e ângulo de contato. A membrana de PES de 150 kDa sem revestimento também teve a avaliação de ângulo de contato realizada.

As técnicas de MEV e AFM trazem informações sobre a morfologia, a rugosidade da superfície externa e a espessura das nanofolhas. A técnica de FTIR-ATR permite investigar os grupos funcionais presentes no óxido de grafeno. A técnica de RAMAN traz informações específicas sobre características estruturais de amostras baseadas em carbono. A técnica de ângulo de contato é uma medida do umedecimento de um sólido (membrana) por um líquido (água).

As caracterizações foram realizadas em diversas localidades: *Laboratoire de Caractérisation des Matériaux* (Université de Montréal, Montréal); *Engineering Process Intensification and Catalysis Laboratory* (Polytechnique Montréal, Montréal); Laboratório Multiusuário do Instituto de Física (Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia); Laboratório Multiusuário do Instituto de Química (Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia); Laboratório de Processos de Separação por Membranas (Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia).

3.5. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos aquosos de alfavaca-cravo, antes e depois dos processos de filtração, foram caracterizados quanto ao conteúdo de compostos fenólicos totais (TPC), à quantidade de sólidos totais e de sólidos solúveis, à atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS, bem como quanto à cor e à turbidez. As diluições dos extratos em água destilada foram realizadas conforme necessidade para cada

método. As análises de compostos fenólicos totais e dos métodos de atividade antioxidante são colorimétricas e foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu, UV 1280). Para detectar e quantificar os ácidos fenólicos individualmente, foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Todas as análises foram feitas em triplicata, à exceção dos casos em que é especificado o número de réplicas realizado.

A apresentação dos resultados pode ser feita em três bases distintas, todas com informações relevantes acerca do extrato obtido: em função do volume de extrato (L^{-1}), em função da massa de extrato seco (g_{extrato}^{-1}) e em função da matriz vegetal utilizada no preparo dos extratos (g_{material}^{-1}).

3.5.1. Conteúdo de compostos fenólicos totais

Para determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais, foi utilizado o método colorimétrico com reagente de Folin-Ciocalteu, segundo Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999) com modificações. De forma breve, uma alíquota de 150 μL do extrato diluído foi colocada em tubo de ensaio. Foram adicionados 150 μL do reagente de Folin-Ciocalteu 50% (v/v) e 2700 μL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) $3,79 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ ao tubo de ensaio. As amostras foram homogeneizadas por 10 s e levadas para incubação no escuro por 30 min. A leitura da absorbância das amostras foi realizada em espectrofotômetro a 725 nm. O "branco", necessário para calibrar o espectrofotômetro, foi preparado pelo mesmo método, com a substituição do extrato pelo solvente extrator (água destilada). A concentração dos compostos fenólicos totais nas amostras foi determinada a partir de uma curva analítica de ácido gálico, presente no Anexo A. Assim, os resultados são inicialmente expressos em mg de equivalente de ácido gálico por L de extrato ($mg_{EAG} \cdot L^{-1}$) e convertidos em mg de equivalente de ácido gálico por g de extrato seco ($mg_{EAG} \cdot g_{\text{extrato}}^{-1}$).

3.5.2. Atividade antioxidante pelo método de ABTS

O método sugerido por Nenadis *et al.* (2004) foi o ponto de partida para determinar a atividade antioxidante pelo método de ABTS. De forma breve, uma alíquota de 30 μL do extrato diluído foi colocada em tubo de ensaio, seguida de 3,0 mL da solução do radical $ABTS^+$. A reação foi homogeneizada e, após 6 min, levada para

leitura de absorbância em espectrofotômetro a 734 nm. Para a calibração do equipamento, álcool etílico foi utilizado como "branco". O radical ABTS⁺, necessário para a análise, foi preparado a partir da reação de 5,0 mL de uma solução de ABTS 7 mmol·L⁻¹ com 88 µL de uma solução de persulfato de potássio 140 mmol·L⁻¹. A mistura foi mantida em ambiente escuro por 16 h, e então 1,0 mL dessa solução foi diluído em álcool etílico até a obtenção de uma absorbância inicial de 0,70 ± 0,05 a 734 nm. O potencial antioxidante das amostras foi determinado a partir de uma curva analítica de trolox, presente no Anexo A. Assim, os resultados são expressos em µM de equivalente de trolox por g de extrato seco (µM_{ET}·g_{extrato}⁻¹).

3.5.3. Atividade antioxidante pelo método de DPPH

O método sugerido por Thaipong *et al.* (2006) foi a base para a determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH. Uma alíquota de 150 µL do extrato diluído foi adicionada em tubo de ensaio, seguida por 2850 µL de solução de trabalho de DPPH. As amostras foram homogeneizadas e levadas para incubação no escuro por 1 h. Foi preparado ainda um controle negativo, com a substituição do extrato por água destilada, nas mesmas proporções. A leitura da absorbância das amostras foi realizada em espectrofotômetro a 515 nm. Para a calibração do equipamento, metanol foi utilizado como "branco". A solução de trabalho foi preparada a partir de uma solução metanólica de DPPH 0,024% (m/v), onde 10 mL da solução estoque foram misturados com aproximadamente 45 mL de metanol para obter uma absorbância inicial de 1,10 ± 0,02 a 515 nm. O potencial antioxidante das amostras foi determinado a partir de uma curva analítica de trolox, presente no Anexo A. Assim, os resultados são expressos em µM de equivalente de trolox por g de extrato seco (µM_{ET}·g_{extrato}⁻¹).

3.5.4. Sólidos totais

Para a determinação do conteúdo de sólidos totais, amostras dos extratos foram colocadas em placas de Petri e secas em estufa (Biomatic) a 105 °C, por 24 h. A massa das amostras, correspondente a um volume de 20 mL, foi registrada antes e depois da secagem. A concentração de sólidos (mg·L⁻¹) pode ser expressa pela razão entre a massa de sólidos secos pelo volume da amostra (Magalhães *et al.*, 2019).

3.5.5. Sólidos solúveis totais

Para a determinação do teor de sólidos solúveis totais, expresso em °Bx, foi utilizado um refratômetro digital de bancada (Hanna Instruments, HI 96801), calibrado a temperatura ambiente com água ultrapura. Em cada medição, 5 gotas do extrato foram colocadas no prisma do instrumento, que fornecia a leitura imediata dos sólidos solúveis da amostra.

3.5.6. Turbidez

Para determinar a turbidez dos extratos aquosos, foi utilizado um turbidímetro de bancada (MS Tecnopon®, TB-1000), com leituras expressas em unidades nefelométricas de turbidez (NTU).

3.5.7. Cor

Para determinar a cor dos extratos aquosos, foi utilizado um colorímetro (Konica Minolta, CR-5) no modo de transmitância. Em cada medição, determinado volume do extrato era colocado em uma placa translúcida e inserida no instrumento, que fornecia a leitura imediata. A medida de cor é expressa no sistema CIE (L^* , a^* , b^*), em termos de três coordenadas: a coordenada vertical de luminosidade (L^*), que indica a claridade da cor e varia de $L = 0$ (preto absoluto) até $L = 100$ (branco absoluto); e as coordenadas horizontais de cromaticidade (a^* e b^*), onde a^* varia de -a (verde) até +a (vermelho), enquanto b^* varia de -b (azul) até +b (amarelo) (Coultate, 2009).

3.5.8. Análises cromatográficas

Sete ácidos fenólicos, listados no Quadro 4, foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando um cromatógrafo líquido (Shimadzu, LC-20AT Prominence) equipado com controlador de sistema (CBM-20A), amostrador automático (SIL-10AF), unidade de desgaseificação (DGU-20A5), forno de circulação forçada de ar para a coluna (CTO-20A) e detector UV/Vis (SPD-20A). O

software Shimadzu LC Solution foi usado para realizar o controle do sistema e a análise dos dados.

Quadro 4 – Padrões de ácidos fenólicos usados neste estudo

Ácido fenólico	Massa (g·mol⁻¹)
Ácido cafeico	180,16
Ácido clorogênico	354,31
Ácido elágico	302,19
Ácido ferúlico	194,18
Ácido p-cumárico	164,15
Ácido rosmarínico	360,31
Ácido sinapínico	224,21

Fonte: o autor

O método sugerido por Wang, Provan e Helliwell (2004), com modificações, foi a base para a quantificação dos ácidos fenólicos. A separação foi executada em uma coluna de fase reversa C18 (Supelco Analytical, Discovery[®] HS) com comprimento de 25 cm, diâmetro interno de 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. A coluna foi mantida a 30 °C, o comprimento de onda para a detecção foi definido em 330 nm, e o tempo total de corrida foi de 32 min. A vazão foi estabelecida em 1,0 mL·min⁻¹, e o volume de injeção era 10 µL. Duas fases móveis foram utilizadas: o eluente A contendo 0,1% (v/v) de ácido fosfórico (H₃PO₄) em água e o eluente B contendo 0,1% (v/v) de ácido fosfórico em metanol. O gradiente linear começou com 40% do solvente B e foi aumentado para 50% entre 0 e 25 min; o gradiente foi então reduzido para 40% do solvente B entre 25 e 26 min; e a fração de 40% do solvente B foi mantida entre 26 e 32 min para recondicionar a coluna antes da injeção seguinte.

Os padrões foram dissolvidos em uma mistura (50% do volume) das fases móveis. As soluções de calibração foram diluídas para conter de 0,1 mg·L⁻¹ a 100 mg·L⁻¹ para os ácidos cafeico, clorogênico, ferúlico, p-cumárico e sinapínico; de

0,5 mg·L⁻¹ a 100 mg·L⁻¹ para o ácido rosmarínico; e de 1 mg·L⁻¹ a 100 mg·L⁻¹ para o ácido elágico. O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) para os compostos foram estimados pela razão sinal-ruído (S/N, do inglês *signal-to-noise*), onde LD é 3 vezes a altura do ruído e LQ é 10 vezes a altura do ruído (Hefni, Amann e Witthöft, 2019).

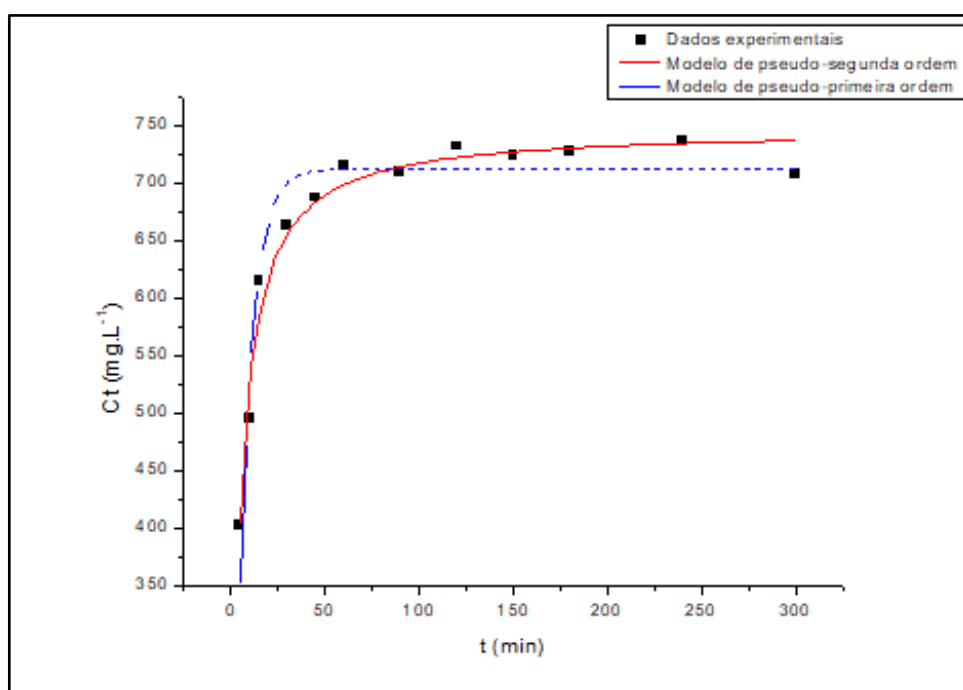
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CINÉTICA DE EXTRAÇÃO

Vários autores sugerem que o processo de extração sólido-líquido funciona como o inverso do processo de adsorção e, por isso, a utilização de modelos cinéticos que são bem estabelecidos para a adsorção tem aceitabilidade no estudo da cinética de extração (Harouna-Oumarou *et al.*, 2007; Sukor, Jusoh e Kamarudin, 2021). Neste trabalho, foram selecionados para ajuste os modelos de pseudo-primeira ordem e de pseudo-segunda ordem. Segundo Agu *et al.* (2021), o modelo de pseudo-segunda ordem já tem sido usado para estudo de processos extrativos com plantas, sementes e castanhas.

A variação do conteúdo de compostos fenólicos totais da extração aquosa de *Ocimum gratissimum* L. em função do tempo é reportada na Figura 9, assim como o ajuste dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e de pseudo-segunda ordem aos dados experimentais.

Figura 9 – Curva de extração de *Ocimum gratissimum* L. por tempo e ajuste a modelos cinéticos



Fonte: o autor

Como esperado, ocorre um aumento significativo na concentração do extrato nos primeiros minutos do processo, seguido por uma desaceleração com tendência de saturação, momento em que o solvente não é mais capaz de extrair de forma eficiente os polifenóis. Este comportamento também é reportado por Harouna-Oumarou *et al.* (2007), para a extração de espécies lenhosas do gênero *Tilia*, por Balyan e Sarkar (2017), para a extração aquosa de jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), e por Hobbi *et al.* (2021), para a extração de resíduo de maçã.

A lei de Fick ajuda a entender a curva de extração, pois explica que, no início do processo de extração, o gradiente de concentração entre as fases sólida e líquida é grande, resultando em uma alta difusão dos compostos fenólicos para o solvente. Entretanto, com o progresso da extração, ocorre a diminuição natural deste gradiente até que haja um equilíbrio entre as fases e a difusão em função do tempo se torne desprezível (Harouna-Oumarou *et al.*, 2007; Hobbi *et al.*, 2021).

Os valores da concentração dos compostos fenólicos no equilíbrio (C_s , $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), da constante de velocidade de extração de 1ª ordem (k_1 , min^{-1}), da constante de velocidade de extração de 2ª ordem (k_2 , $\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) e do coeficiente de determinação (R^2) são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros cinéticos para extração aquosa de polifenóis para *Ocimum gratissimum* L

Modelo cinético	Constante (k_1 , min^{-1} ; k_2 , $\text{L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$)	C_s ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	R^2
Pseudo-primeira ordem	$0,13 \pm 0,01$	$711,61 \pm 8,94$	0,9376
Pseudo-segunda ordem	$3,18\cdot 10^{-4} \pm 2,76\cdot 10^{-5}$	$746,88 \pm 7,71$	0,9699

Fonte: o autor

O modelo cinético de pseudo-segunda ordem apresentou melhor ajuste aos dados experimentais, com R^2 de 0,9699. O valor da concentração de equilíbrio retornado pelo modelo também se aproxima do valor observacional considerado para a saturação, de aproximadamente $730 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Harouna-Oumarou *et al.* (2007), que também aplicaram os modelos de pseudo-primeira ordem e de pseudo-segunda ordem a seus dados experimentais, comentam que poucos processos têm um ajuste satisfatório à primeira ordem e que este modelo geralmente é apenas aplicável aos primeiros minutos da extração. Os autores comentam ainda que o modelo de pseudo-segunda ordem geralmente é mais correto devido à desaceleração do processo extrativo que tende à estabilização.

Outros trabalhos que reportam que o modelo de pseudo-segunda ordem se ajusta de forma satisfatória à extração de compostos fenólicos são Sukor, Jusoh e Kamarudin (2021) que trabalharam com uma noz de carvalho (*Quercus infectoria*); Agu *et al.* (2021) que trabalharam com óleo da semente de manga selvagem (*Irvingia gabonensis*); e Hobbi *et al.* (2021) que trabalharam com extrato aquoso de resíduo de maçã. Contrariando este grupo, Balyan, Verma e Sarkar (2019) interpretam que, para seus dados, o modelo de pseudo-primeira ordem foi suficiente para descrever a extração de polifenóis totais das folhas de jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) devido à relação entre a velocidade de extração e a energia de ativação.

Retornando aos dados experimentais, percebe-se uma queda no teor de compostos fenólicos totais no ponto de 300 min, que pode ser indicador de degradação dos compostos. Hobbi *et al.* (2021) comentam que a redução do conteúdo de compostos fenólicos pode ser atribuída à oxidação, à decomposição e à degradação térmica destes compostos, resultante do aquecimento e do prologado tempo de extração.

Por fim, a determinação do tempo de extração para os experimentos posteriores da pesquisa levou em conta a estabilização da concentração de polifenóis extraídos. Foi considerado que o equilíbrio se dava próximo de 120 min, o que é reforçado pela proximidade do dado experimental neste tempo com o valor observacional da saturação ($730 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

4.2. CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

4.2.1. Pela quantidade de compostos fenólicos

A extração das folhas de *Ocimum gratissimum* L. foi realizada em meio aquoso, sob temperatura de 75 °C e agitação, por 120 min. As análises físico-químicas realizadas no extrato bruto trazem informações úteis sobre as características desse produto.

O primeiro indicador avaliado foi o conteúdo de compostos fenólicos totais (TPC) por um método colorimétrico simples e amplamente utilizado. Uma comparação dos dados de TPC obtidos nesta pesquisa com os dados reportados na literatura, para a espécie *Ocimum gratissimum* L., é apresentada na Tabela 4. Pode-se ressaltar que existe uma diversidade de solventes utilizados e condições aplicadas na extração de compostos bioativos, o que também é refletido nos dados presentes nas comparações apresentadas.

Neste trabalho, foi obtido um extrato com conteúdo de compostos fenólicos totais (TPC) de $782,50 \pm 4,19 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{L}^{-1}$. Quando se avalia a massa de extrato seco, tem-se que o teor de TPC é $340,22 \pm 1,82 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$. Por fim, ao relacionar a massa de folhas secas utilizada para a extração, tem-se que o teor de TPC é $78,25 \pm 0,42 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$.

Os resultados relacionados na Tabela 4 indicam que o extrato obtido neste trabalho possui uma quantidade de compostos fenólicos totais bastante superior ao que foi apresentado por Akinmoladun *et al.* (2007) e levemente superior ao que foi apresentado por Anusmitha *et al.* (2022). Em ambos os casos, não houve menção à temperatura em que foi realizada a extração. É possível inferir que, o aumento da temperatura do sistema, como realizado neste trabalho, aumenta a difusão dos compostos fenólicos no solvente extrator.

Tabela 4 – Comparação dos resultados de compostos fenólicos totais extraídos da espécie *Ocimum gratissimum* L. por diversos solventes

Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Razão sólido-líquido (g:mL)	Teor de TPC (mg _{EAG} ·g _{extrato} ⁻¹)	Referência
Água destilada	75	120	1:100	340,22 ± 1,82	Este trabalho
Metanol em água (80%)	-	4320 (72 h)	1:2,5	5,68 ± 0,06	(Akinmoladun <i>et al.</i> , 2007)
Água destilada (ultrassom)	-	60	1:10	245,3 ± 6,5	(Anusmitha <i>et al.</i> , 2022)
Etanol em água (70%)	Ambiente	Até descoloração	1:10	124,3 ± 5,8	(Venuprasad <i>et al.</i> , 2014)
Água destilada	-	2880 (48 h)	1:10	0,9003 ± 0,006	(Olamilosoye <i>et al.</i> , 2018)
Metanol	40	360	1:6	0,0243 ± 0,0024	(Onyebuchi e Kavaz, 2020)
Etanol	60			0,0229 ± 0,0031	
Água destilada	90			0,0126 ± 0,0044	
Água destilada	110			0,0180 ± 0,0061	
Metanol em água (80%)	-	-	-	839 ± 97	(Awah e Verla, 2010)

Fonte: o autor

Os resultados obtidos neste trabalho estão na mesma ordem de grandeza do que foi apresentado por de Souza *et al.* (2021), que também trabalharam com a espécie colhida em solo brasileiro e encontraram um teor de $93,88 \pm 3,74 \text{ mgEAG} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$. Ainda que a literatura reporte que solventes orgânicos extraem melhor os compostos fenólicos, a utilização de água como extrator pode oferecer resultados competitivos por meio da otimização dos parâmetros de operação.

Por fim, notam-se valores muito discrepantes no teor de TPC, o que é razoavelmente comum no trabalho com compostos bioativos. Como exemplo tem-se os valores relatados por Onyebuchi e Kavaz (2020), que são muito inferiores a todos os outros aqui reportados. A variedade na quantidade de compostos bioativos é resultado não só das condições operacionais de extração, como também da diferença de espécies avaliadas, das condições de plantio (solo, irrigação, época de colheita) e da forma de secagem do material.

Cabe pontuar que, como dito anteriormente, a espécie utilizada nesta pesquisa (*Ocimum gratissimum* L.) é uma planta subutilizada. Assim, existem várias lacunas na literatura a serem preenchidas sobre esta matriz vegetal. Dessa forma, é válida não só a comparação dentro da mesma espécie, como também com outras espécies do mesmo gênero (*Ocimum*) e até da mesma família (Lamiaceae), por conta da similaridade de compostos presentes. Uma comparação dos dados de TPC obtidos nesta pesquisa com os dados reportados na literatura, para outras espécies do gênero *Ocimum*, é apresentada na Tabela 5.

O resultado de teor de TPC obtido neste trabalho, para *Ocimum gratissimum* L., é superior aos valores apresentados por Anusmitha *et al.* (2022) e por Ibrahim, Mansour e Elkady (2020), que também utilizaram água como solvente, para outras espécies de *Ocimum*. Pode-se inferir que a espécie utilizada neste trabalho possui uma quantidade de polifenóis maior que outras espécies semelhantes, como os manjericões convencionais (*Ocimum basilicum* e *Ocimum americanum*).

Ao comparar a extração das folhas, como realizado neste trabalho, com a extração das sementes, como realizado por Sharma *et al.* (2021), percebe-se que o extrato das sementes do gênero *Ocimum* apresentam teor de TPC superior ao extrato das folhas. Entretanto, este fato pode ser resultado tanto do material extraído, quanto da utilização de solventes (metanol e clorofórmio).

Tabela 5 - Comparação dos resultados de compostos fenólicos totais extraídos de espécies do gênero *Ocimum* por diversos solventes

Espécie	Solvente	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Teor de TPC (mg _{EAG} ·g _{extrato} ⁻¹)	Referência
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Água destilada	75	120	340,22 ± 1,82	Este trabalho
<i>Ocimum americanum</i>				229,8 ± 8,8	
<i>Ocimum citriodorum</i>	Água destilada (ultrassom)	-	60	240,4 ± 6,6	(Anusmitha <i>et al.</i> , 2022)
<i>Ocimum basilicum</i>				246,2 ± 8,0	
<i>Ocimum basilicum</i>	Água destilada	40	300	146,31 ± 0,04	(Ibrahim, Mansour e Elkady, 2020)
<i>Ocimum basilicum</i> (sementes)	Metanol			863,73 ± 7,13	
	Clorofórmio	25	2880 (48 h)	758,85 ± 4,72	(Sharma <i>et al.</i> , 2021)
<i>Ocimum sanctum</i> (sementes)	Metanol			757,32 ± 4,11	
	Clorofórmio			535,11 ± 3,45	

Fonte: o autor

Durante o curso desta pesquisa, também foi realizado um teste de extração de amostra comercial seca de *Ocimum basilicum*, adquirida no comércio local de Goiânia – GO. Foi seguida a mesma metodologia aplicada até aqui, com exceção do tempo de extração que foi de 30 min. Na ocasião, o conteúdo de compostos fenólicos totais e outros indicadores físico-químicos também foram calculados. O resultado para o teor de TPC foi $164,61 \pm 1,36 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{L}^{-1}$, o que é condizente com alguns dos valores reportados na Tabela 5 e com a hipótese de que *Ocimum gratissimum* L. possui maior quantidade de determinados polifenóis que *Ocimum basilicum*.

4.2.2. Pela atividade antioxidante

Outra forma de caracterização do extrato é a avaliação de sua capacidade antioxidante. Os métodos baseados em transferência de elétrons medem a capacidade de um antioxidante na redução de um oxidante, que muda de cor quando é reduzido. O grau de mudança de cor se correlaciona com a concentração de antioxidantes na amostra. Estes ensaios englobam o método de Folin-Ciocalteu para compostos fenólicos totais (TPC), o método do reagente estável DPPH, o método do radical ABTS e o método de redução de íon férrico (FRAP) (Huang, Boxin e Prior, 2005). Os valores obtidos neste trabalho para o potencial antioxidante do extrato aquoso de alfavaca-cravo são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Resultados de capacidade antioxidante no extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* L

DPPH (% de inibição)	DPPH ($\mu\text{MET} \cdot \text{g}^{-1}$)	ABTS ($\mu\text{MET} \cdot \text{g}^{-1}$)
$34,57 \pm 1,05$	$2493,54 \pm 77,61$	$2597,10 \pm 175,52$

Fonte: o autor

Akinmoladun *et al.* (2007) reportam que o extrato metanólico de *Ocimum gratissimum* L. apresentou uma inibição de 84,6% na concentração de extrato de $250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para o método de DPPH, valor superior ao encontrado nesta pesquisa.

Além de poucos resultados referentes ao extrato de *Ocimum gratissimum* L., nota-se novamente uma diversidade de formas de apresentação dos dados de

potencial antioxidante. Vários trabalhos reportam seus valores em IC₅₀, como Awah e Verla (2010); de Souza *et al.* (2021); Onyebuchi e Kavaz (2020), porém esta metodologia não foi empregada nesta pesquisa.

O trabalho de Pedro *et al.* (2016) relata que, para o extrato de *Ocimum basilicum* preparado em mistura de etanol e ácido cítrico a 30 °C por 60 min, o valor do percentual de inibição ao radical DPPH foi 77,21 ± 0,47 %. O trabalho de Javanmardi *et al.* (2003) utilizou o método de ABTS para descrever a capacidade antioxidante do extrato de *Ocimum basilicum*, preparado em solução de acetona (80%) por 60 min, apresentando como resultado 35,7 µM_{TE}·g⁻¹, um quantitativo muito inferior ao encontrado nesta pesquisa.

Em outras áreas, tem-se a avaliação da capacidade antioxidante do extrato aquoso de resíduo de oliva, realizado por Macedo *et al.* (2021), cujo percentual de inibição ao radical DPPH foi de 46%. Ainda, a pesquisa de Balyan e Sarkar (2017), em que foram preparados extratos aquosos de sementes de jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) a 49 °C por 90 min, reporta 75,5 ± 2,5 % de inibição pelo método de DPPH.

4.2.3. Pelas demais análises físico-químicas

O extrato bruto ainda pode ser caracterizado pelo teor de sólidos totais e de sólidos solúveis, pela turbidez e pela cor. De forma breve, o teor de sólidos totais medido pela secagem em estufa, em 8 réplicas, foi 0,230 ± 0,038 %. O teor de sólidos solúveis, medido por refratômetro de bancada, foi 0,4 °Bx.

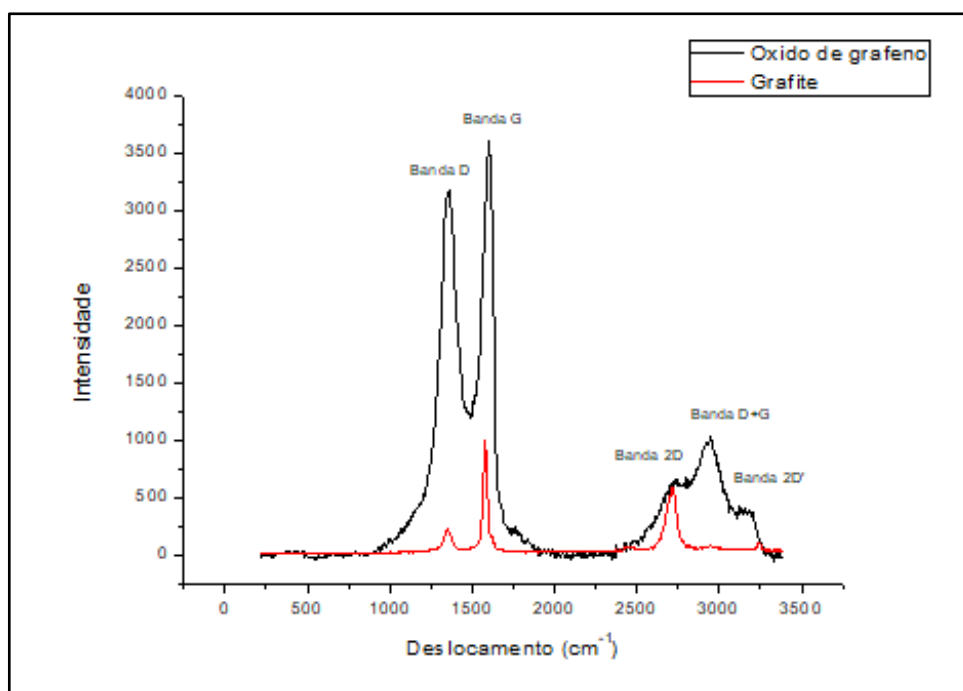
Quanto à turbidez, foi obtido o valor de 29,5 ± 2,1 NTU, pela medição em turbidímetro de bancada. Por fim, a cor do extrato, dada pelo sistema CIE (L*, a*, b*), pode ser descrita como clara, pálida e próximo ao amarelo. A coordenada L* possui valor de 89,95 ± 0,007; a coordenada a* possui valor de -1,10 ± 0,007; e a coordenada b* possui valor de 13,96 ± 0,000.

4.3. MODIFICAÇÃO DA MEMBRANA

4.3.1. Caracterização do óxido de grafeno

O óxido de grafeno, após sintetizado, foi avaliado por espectroscopia Raman e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). A técnica de Raman foi aplicada com finalidade de reconhecer no nanomaterial as bandas características de materiais à base de carbono: D, G e 2D. O espectro Raman obtido para o óxido de grafeno sintetizado e para o grafite que o originou é apresentado na Figura 10.

Figura 10 – Espectro Raman de grafite e óxido de grafeno



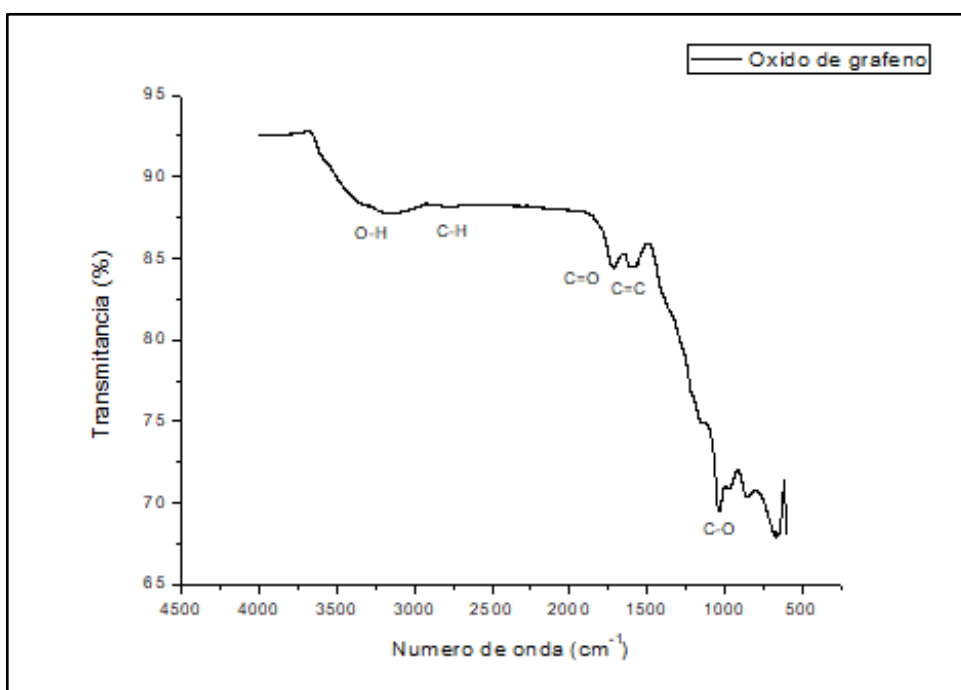
Fonte: o autor

A banda D, localizada próximo de 1350 cm^{-1} , é decorrente da estrutura desordenada de carbono sp^2 hibridizado. A banda G, localizada próximo a 1590 cm^{-1} , é decorrente da vibração em primeiro plano dos átomos de carbono sp^2 . A razão I_D/I_G é útil para determinar o nível de desordem do material (Le *et al.*, 2019).

O grafite apresentou uma razão I_D/I_G de 0,216, enquanto o óxido de grafeno apresentou uma razão de 0,868. Na comparação entre os dois materiais, o deslocamento na banda G pode indicar oxidação do grafite, assim como o alargamento da banda D pode indicar redução no tamanho da rede sp^2 . A razão I_D/I_G , por sua vez, indica aumento no nível de oxidação da estrutura e confirma que grafite se transformou em óxido de grafeno. Le *et al.* (2019) reportam que a razão I_D/I_G pode ser afetada pela esfoliação, onde um aumento no tempo de sonicação leva à diminuição dessa razão, o que sugere um aumento no número de defeitos do material.

O comportamento do espectro no infravermelho da amostra de óxido de grafeno sintetizada, em comprimento de onda de 600 a 4000 cm^{-1} , é apresentado na Figura 11. Algumas bandas de funções oxigenadas devem ser observadas: grupamento hidroxila próximo a 3050-3800 cm^{-1} ; carbonila em 1750-1850 cm^{-1} , carboxila próximo a 1650-1750 cm^{-1} , grupamento aromático em 1500-1600 cm^{-1} , grupos epóxi e éter próximos a 1000-1280 cm^{-1} (Mohammed *et al.*, 2019). Vale considerar que a oxidação poderia ter sido mais efetiva gerando a presença mais proeminente dos grupos oxigenados.

Figura 11 – Espectro no infravermelho de amostra de óxido de grafeno

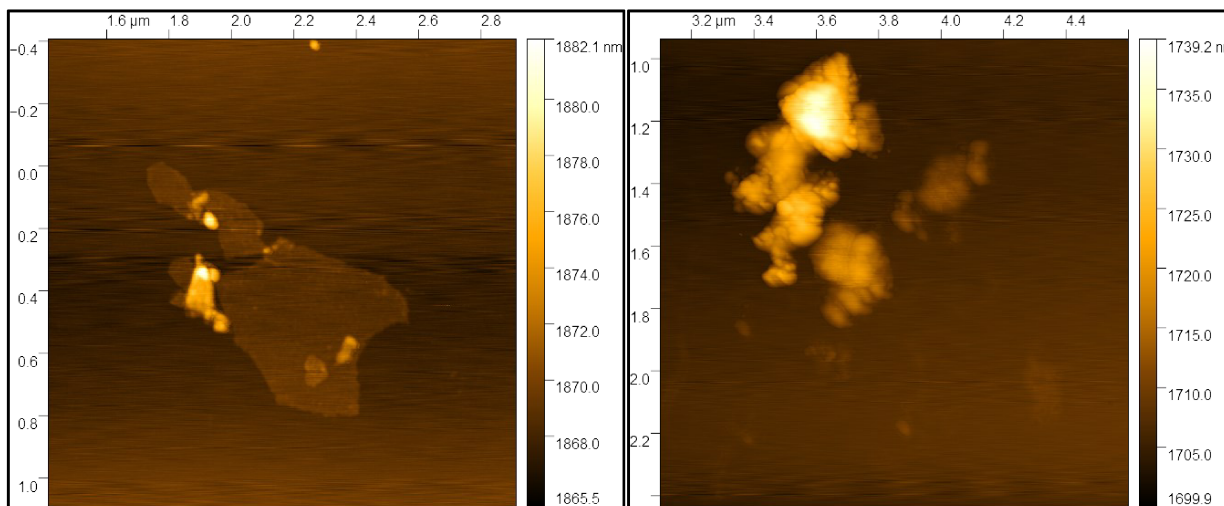


Fonte: o autor

A esfoliação do óxido de grafeno sintetizado seguiu o planejamento experimental 2^k reportado na Tabela 2, com variação das variáveis tempo, amplitude e pulso de sonicação. As amostras foram encaminhadas para análise de microscopia de força atômica (AFM), com objetivo de verificar se a esfoliação foi efetiva e se houve alteração nas nanofolhas do material.

Das oito amostras possíveis, apenas uma apresentou leitura nítida no equipamento: amostra 8, cuja sonicação ocorreu por 30 min, em 55% de amplitude e no modo pulsado. A topografia da amostra citada é apresentada na Figura 12 (A) e, a partir dela, foi possível calcular a espessura e o tamanho lateral da folha de óxido de grafeno. As outras amostras não apresentaram leitura nítida das folhas descamadas, apenas aglomerados do nanomaterial, como ilustrado na Figura 12 (B). Neste caso, não é possível calcular a espessura das folhas, visto que não se pode diferenciar o empilhamento das camadas.

Figura 12 – Topografia de amostra de óxido de grafeno: nanofolha (A) e aglomerados (B)



Fonte: o autor

Nas imagens, um contraste brilhante evidencia folhas empilhadas e com poucas camadas, enquanto um contraste mais escuro pode ser atribuído à presença de multicamadas. Quanto maior o empilhamento de folhas, maior é o aspecto denso e opaco. Assim como a característica de folhas enrugadas indica presença de grupos funcionais oxigenados, maior oxidação e menor empilhamento (Alkhouzaam *et al.*,

2020). Algumas possíveis causas para o aparecimento dos aglomerados incluem a incompleta dispersão do óxido de grafeno seco na fase líquida e a degradação do nanomaterial causada pela potência da sonda.

Ao se selecionar aleatoriamente uma folha de óxido de grafeno e traçar linhas sobre sua superfície, foi possível obter zonas com diferentes tamanhos: zona 1, com tamanho lateral de $0,446 \pm 0,129 \mu\text{m}$ e espessura de $0,378 \pm 0,071 \text{ nm}$; zona 2, com tamanho lateral de $0,066 \pm 0,031 \mu\text{m}$ e espessura de $0,697 \pm 0,078 \text{ nm}$; e zona 3, com tamanho lateral de $0,129 \pm 0,006 \mu\text{m}$ e espessura de $1,232 \pm 0,613 \text{ nm}$. Percebe-se que as nanofolhas não são regulares no tamanho e não apresentam uniformidade de medidas, algo que é natural do material e da forma como foi sintetizado.

4.3.2. Caracterização da membrana revestida

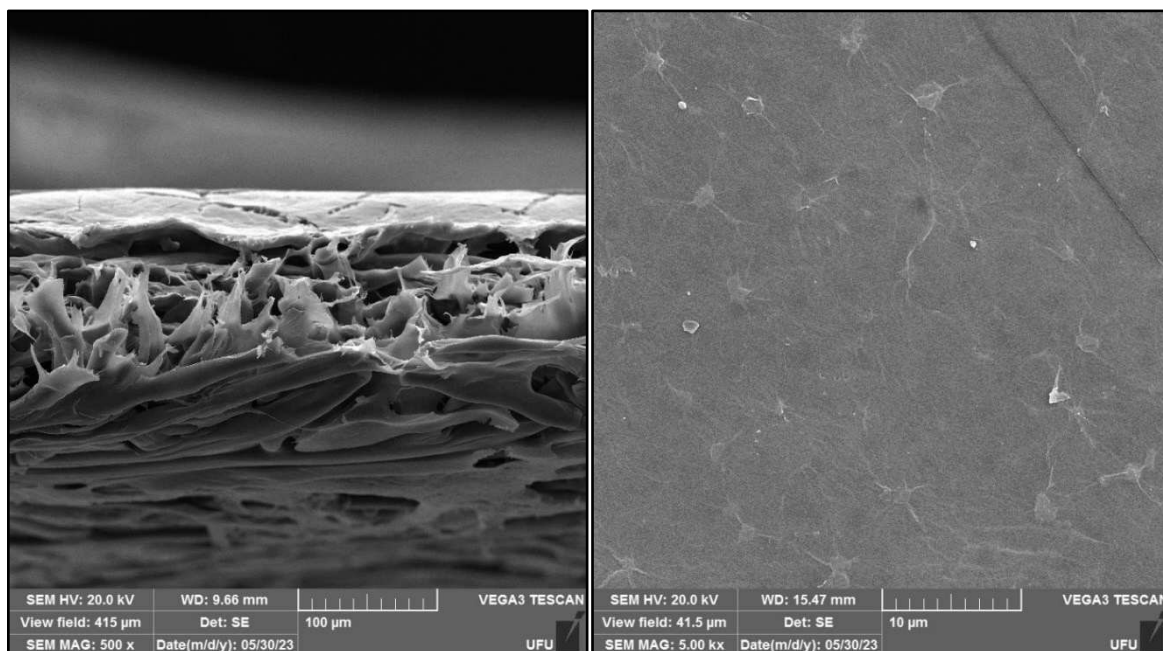
Como a investigação da esfoliação do óxido de grafeno por sonda ultrassônica foi inconclusiva, o revestimento da membrana foi executado com solução de OG esfoliada em banho ultrassônico, fornecida pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Processos de Separação por Membranas. Após a modificação, a membrana de PES revestida com OG/EDA (M_{Rev}) ficou com um aspecto dourado brilhante, como ilustrado na Figura 13. A morfologia de M_{Rev} foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), como apresentado na Figura 14.

Figura 13 – Membrana revestida com OG/EDA acoplada no módulo de filtração



Fonte: o autor

Figura 14 – Micrografia da membrana com OG/EDA em corte transversal (A) e corte superficial (B)



Fonte: o autor

A espessura média da camada de OG/EDA depositada, obtida a partir da imagem transversal, foi de $6,55 \pm 0,18 \mu\text{m}$. Este valor é bastante superior ao revestimento obtido por Zhou *et al.* (2019) ou Li *et al.* (2018), ambos na casa de nanômetros. Isso pode ser resultado do tempo de deposição e da concentração de solução de óxido de grafeno aplicados nesta pesquisa. O aspecto da cobertura, visto na imagem superficial, pode ser considerado moderadamente uniforme na superfície do substrato. Já os defeitos podem ser resultado do processo de filtração a vácuo.

A microscopia de força atômica (AFM) da superfície da membrana permitiu avaliação da rugosidade. Para a membrana sem revestimento, a leitura gerou um valor médio de $240,6 \pm 29,0 \text{ nm}$ para a rugosidade, enquanto para a membrana revestida, a leitura gerou um valor de $1,37 \pm 0,23 \text{ nm}$. A concentração da solução de óxido de grafeno foi suficiente para diminuir consideravelmente a rugosidade na membrana, gerando uma superfície mais densa e uniforme.

Por fim, o ângulo de contato da membrana sem revestimento era $80,3 \pm 4,67^\circ$, enquanto da membrana com revestimento passou a ser $87,9 \pm 1,98^\circ$. Em ambos os casos, a superfície ainda apresenta característica hidrofílica. Entretanto, a expectativa de aumentar a hidrofilicidade com o revestimento não foi atendida. Isso pode ser

decorrência da utilização de alta concentração da camada de revestimento ou da necessidade de mais grupos oxigenados na superfície.

4.4. FILTRAÇÃO

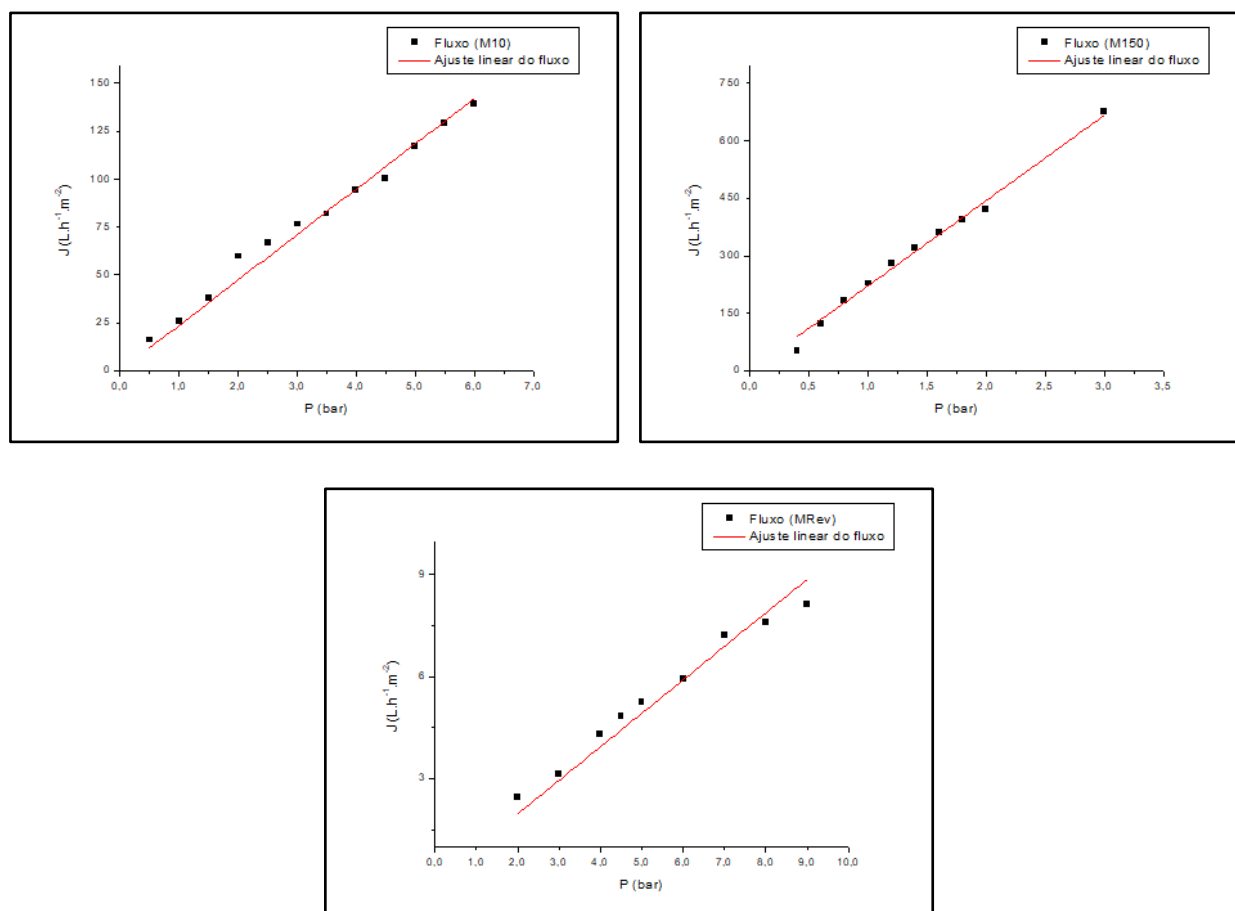
4.4.1. Permeabilidade

A permeabilidade à água, definida como o volume de água que atravessa a membrana por unidade de tempo, por unidade de área e por unidade de pressão, foi medida para cada membrana polimérica utilizada. Considera-se que alta permeabilidade gera um alto fluxo de permeado e economia de energia no processo, com direto efeito na produtividade, porém pode ampliar os efeitos de incrustação na membrana (Huisman *et al.*, 1997).

A medição de permeabilidade hidráulica foi realizada pelo registro do fluxo de água ultrapura em diferentes pressões. Para a membrana de PES de 10 kDa (M_{10}), os dados experimentais de fluxo de permeado e o ajuste linear do fluxo são apresentados na Figura 15 (A). Para a membrana de PES de 150 kDa (M_{150}), estas informações são apresentadas na Figura 15 (B). Por fim, para a membrana de PES de 150 kDa revestida com OG/EDA (M_{Rev}), estas informações são apresentadas na Figura 15 (C).

O valor de permeabilidade obtido para M_{10} foi $23,70 \pm 1,63 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,9963. Para M_{150} , o valor de permeabilidade obtido foi $222,11 \pm 3,36 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$, com coeficiente de determinação de 0,9977. Finalmente, para M_{Rev} , o valor de permeabilidade obtido foi $0,98 \pm 0,005 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$, com coeficiente de determinação de 0,9947.

Figura 15 – Fluxo de água em função da pressão (A: 10 kDa; B: 150 kDa; C: 150 kDa revestida)



Fonte: o autor

O trabalho de Sousa *et al.* (2016) aponta um valor de permeabilidade à água de $23,97 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$ para a membrana de 10 kDa, que é um valor bastante próximo ao obtido neste estudo. Já o trabalho de Miguel, Cardoso e Reis (2023) aponta um valor de permeabilidade de $67,76 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{bar}^{-1}$ para o mesmo tipo de membrana. Uma possibilidade para essa diferença de valores está relacionada com a forma como a compactação da membrana foi realizada.

Segundo o fabricante (Microdyn-Nadir®), o fluxo de água para M₁₀, medido a 3 bar e 20 °C, deve ser superior a $150 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Nesta pesquisa, o valor obtido nas condições sugeridas foi de apenas $76,42 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Para M₁₅₀, o fluxo de água deve ser superior a $200 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$, quando medido a 0,7 bar e 20 °C, segundo dados do fabricante. Nesta pesquisa, a medição foi realizada a 0,8 bar e retornou um valor de

fluxo de água de $181,85 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$. Os resultados são indícios de que as membranas não estavam operando na sua máxima capacidade.

Huisman *et al.* (1997) comentam alguns outros fatores que podem interferir nos resultados da permeabilidade, como a idade da membrana, o tempo de filtração e a pressão transmembrana aplicada. Além disso, a concentração de sais e a temperatura do processo podem afetar a viscosidade do fluido e ter efeito na permeabilidade. Os autores notaram que a utilização de água encanada refletia em valores de permeabilidade aparente maiores que com a utilização de água dessalinizada, provavelmente devido à dispersão de sais e outros minerais no líquido. Outro comentário levantado pelos autores é a variação dos valores de permeabilidade hidráulica em diferentes peças de uma mesma folha da membrana, o que pode indicar que também existe variação na distribuição do número e do tamanho dos poros.

A membrana M_{150} apresenta poros maiores que a membrana M_{10} , o que justifica um valor de permeabilidade maior e consequentemente um maior fluxo de permeado. A comparação entre as membranas M_{150} e M_{Rev} indica que a camada de recobrimento de OG/EDA foi responsável pelo fechamento de poros, causando uma queda significativa no valor de permeabilidade. Experimentalmente foi perceptível a diminuição do fluxo de permeado, a necessidade de aplicação de uma maior pressão transmembrana e o prolongamento do tempo de operação requerido para a filtração.

4.4.2. Ultrafiltração

De forma geral, nota-se uma rápida redução no fluxo de permeado nos primeiros 10 min, para as membranas M_{10} e M_{150} , e nos primeiros 5 min, para a membrana M_{Rev} . Após esse tempo, ainda houve redução no fluxo medido, porém de forma menos pronunciada. Sousa *et al.* (2016) também observaram este comportamento para a ultrafiltração do extrato de folhas de chá verde em membrana polimérica de 10 kDa. Chhaya *et al.* (2012) também comentam a queda do fluxo para a ultrafiltração de extrato aquoso de folhas de estêvia em membrana polimérica de 30 kDa. A investigação das causas dessa queda aparente no fluxo de permeado pode ser realizada pela modelagem de decaimento de fluxo.

4.4.3. Modelo de decaimento do fluxo

O perfil do fluxo de permeado apenas dá informações parciais sobre como o processo de ultrafiltração se comportou. Podem ser investigados ainda os mecanismos que levaram ao declínio do fluxo e em que grau eles impactam o processo. Para isso, a utilização da Equação 5 permitiu ajustar 4 modelos pela alteração do índice n relacionado a cada mecanismo de entupimento da membrana. Os valores do parâmetro k_n para cada mecanismo, bem como o coeficiente de determinação para cada modelo ajustado, são apresentados na Tabela 7.

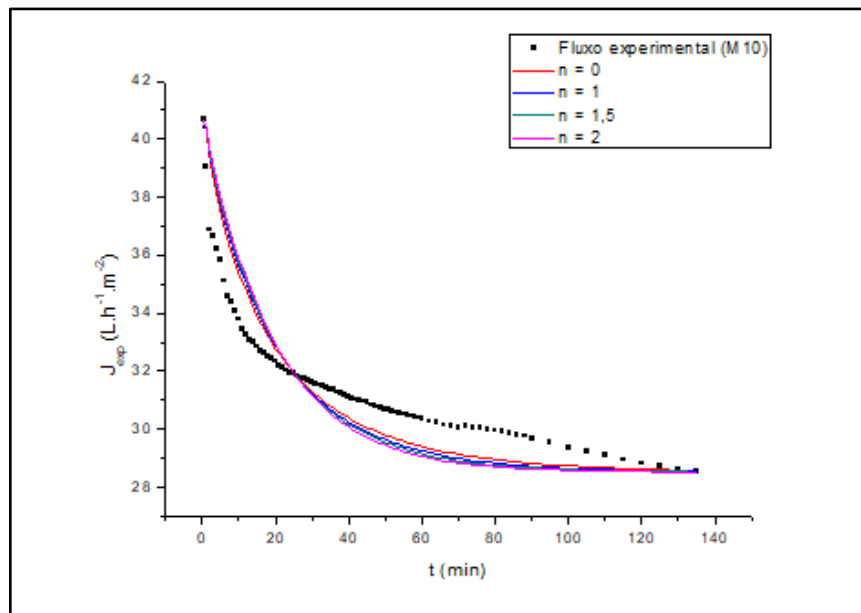
Tabela 7 - Avaliação dos parâmetros de incrustação, segundo a modelagem de decaimento de fluxo

		Formação de torta (n = 0)	Bloqueio parcial dos poros (n = 1)	Bloqueio interno dos poros (n = 1,5)	Bloqueio completo dos poros (n = 2)
M₁₀	k_n	$4,21 \cdot 10^{-5}$	$1,47 \cdot 10^{-3}$	$8,76 \cdot 10^{-3}$	$5,22 \cdot 10^{-2}$
	R^2	0,9566	0,8661	0,8542	0,8420
M₁₅₀	k_n	$7,20 \cdot 10^{-6}$	$5,05 \cdot 10^{-4}$	$4,33 \cdot 10^{-3}$	$3,71 \cdot 10^{-2}$
	R^2	0,9940	0,9459	0,9218	0,8952
M_{Rev}	k_n	$3,01 \cdot 10^{-3}$	$8,45 \cdot 10^{-3}$	$1,44 \cdot 10^{-2}$	$2,44 \cdot 10^{-2}$
	R^2	0,9101	0,7022	0,6951	0,6881

Fonte: o autor

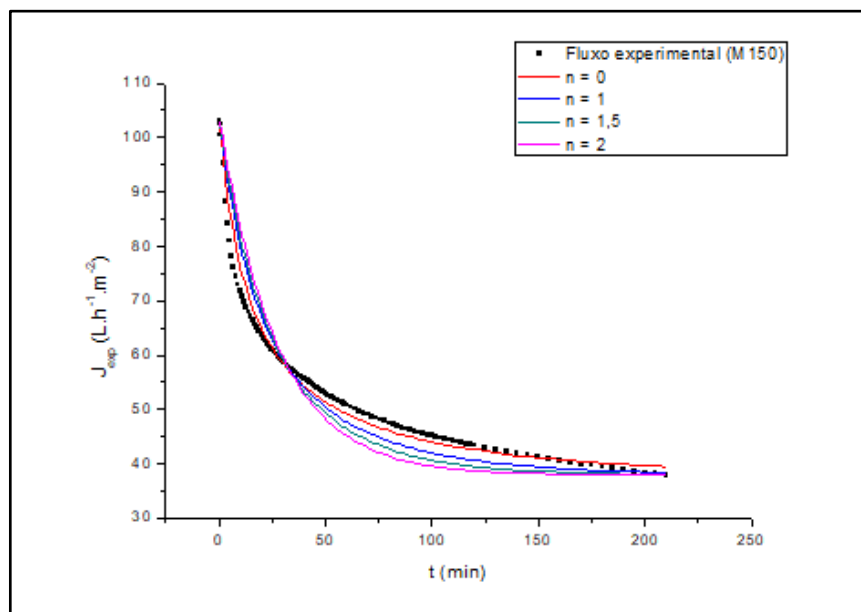
A avaliação de quais mecanismos de incrustação mais influenciaram no decaimento do fluxo se beneficia tanto dos valores numéricos retornados quanto da análise gráfica da modelagem. Assim, os valores experimentais de fluxo e os modelos de decaimento ajustados são apresentados graficamente na Figura 16, para a membrana M₁₀; na Figura 17, para a membrana M₁₅₀; e na Figura 18, para a membrana M_{Rev}.

Figura 16 - Fluxo experimental e fluxo calculado para a filtração de extrato de alfavaca-cravo em M₁₀



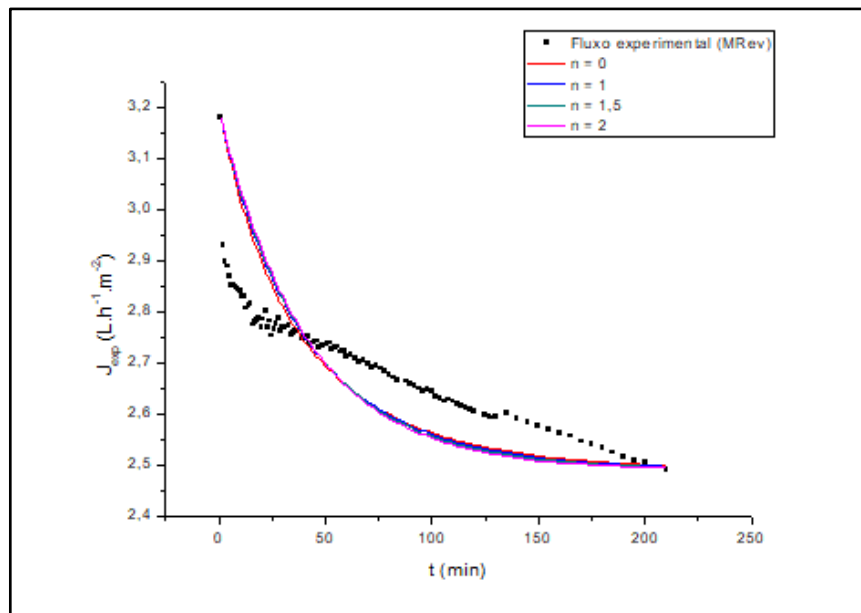
Fonte: o autor

Figura 17 – Fluxo experimental e fluxo calculado para a filtração de extrato de alfavaca-cravo em M₁₅₀



Fonte: o autor

Figura 18 - Fluxo experimental e fluxo calculado para a filtração de extrato de alfavaca-cravo em M_{Rev}



Fonte: o autor

Para o processo de ultrafiltração do extrato aquoso de alfavaca-cravo utilizando a membrana de PES de 10 kDa (Figura 16), o modelo de formação de torta ($n = 0$) apresentou melhor ajuste aos dados experimentais e pode ser considerado o principal mecanismo de incrustação. Os valores de R^2 para os outros mecanismos de bloqueio de poros também são altos, o que pode indicar que eles também atuam em grau elevado no decaimento do fluxo de permeado.

Para o processo de ultrafiltração com a membrana de PES de 150 kDa (Figura 17), todos os modelos apresentam altos valores de R^2 , indicando que os mecanismos de incrustação contribuem de forma expressiva para o decaimento do fluxo. Novamente, a formação de torta parece ser o mecanismo com maior influência no comportamento do fluxo.

Para o processo de ultrafiltração com a membrana revestida com OG/EDA (Figura 18), o ajuste dos modelos aos dados experimentais pode ser considerado pouco satisfatório. Mais uma vez, a formação de torta figura como o mecanismo de maior influência no decaimento do fluxo. Entretanto a contribuição dos bloqueios de poros não parece ser muito expressiva. Este fato pode ser decorrência do fechamento

de poros previamente causado pela deposição de OG/EDA, o que levou a uma maior restrição na passagem de líquido pela membrana.

Gerke *et al.* (2017) relatam que a formação de torta foi o principal mecanismo responsável pelo decaimento do fluxo durante a clarificação de extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) por microfiltração com membrana polimérica. Os autores também sintetizam que a formação de torta geralmente é reportada nos processos de clarificação de sucos. Balyan, Verma e Sarkar (2019) descrevem que o decaimento do fluxo durante a purificação de extrato de folha de jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) foi afetado em maior intensidade pela formação de torta e em menor intensidade pelo bloqueio completo dos poros, o que é comparável com os resultados obtidos nesta pesquisa.

O trabalho de Wang *et al.* (2012), ao avaliar os mecanismos de incrustação no processo de ultrafiltração do caldo de fermentação do ácido succínico, relata que a formação de torta também exerce maior efeito na membrana de PES de 10 kDa. Outra membrana que utilizaram, a de PES de 100 kDa, apresentou ajustes muito próximos para os 4 mecanismos, indicando possível influência de todos eles, o que é semelhante ao que ocorreu nesta pesquisa para a membrana de PES de 150 kDa.

Wang *et al.* (2012) ainda comentam que a incrustação da membrana é dependente não só das características da membrana como também da solução de alimentação. E discutem que a formação de torta na membrana de 10 kDa pode ser um indicativo de que as partículas presentes no extrato bruto são muito maiores que o tamanho de poro de uma membrana de PES de 10 kDa. Assim, elas se acumulam na superfície no momento inicial da ultrafiltração, sem necessariamente entupir os poros. Essa possibilidade também é levantada por Balyan, Verma e Sarkar (2019), que sugerem que o tamanho dos compostos no extrato de folha de jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) possuem tamanho comparável ou maior que os poros das membranas avaliadas por eles.

4.4.4. Modelo de resistências em série

O modelo de resistências em série também permitiu estimar os valores de resistência ao fluxo que interferem no sistema. Os valores calculados para a

resistência hidráulica da membrana (R_M), para a resistência de formação de torta (R_C), para a resistência de adsorção (R_A) e para a resistência de polarização por concentração (R_P), bem como para a resistência total (R_T) em cada membrana, são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Resistências obtidas para o processo de ultrafiltração do extrato aquoso de alfavaca-cravo

Resistências (10^{13} m^{-1})					
	R_M	R_C	R_A	R_P	R_T
M_{10}	1,88 (26,5%)	0,606 (8,5%)	1,76 (24,8%)	2,85 (40,2%)	7,096
M_{150}	0,188 (17,6%)	0,157 (14,7%)	0,115 (10,8%)	0,606 (56,9%)	1,066
M_{Rev}	42,6 (32,8%)	59,4 (45,7%)		27,9 (21,5%)	129,9

Fonte: o autor

Mesmo fabricadas em um mesmo material, é natural que a resistência hidráulica (R_M) para a membrana de 10 kDa (M_{10}) seja maior que para a membrana de 150 kDa (M_{150}), devido a um maior fechamento na rede de poros de M_{10} . No caso deste trabalho, a resistência hidráulica de M_{10} foi computada como 10 vezes maior que a resistência de M_{150} . Na comparação entre M_{150} e a membrana revestida com solução de OG/EDA (M_{Rev}), que se diferenciam pelo revestimento, a resistência intrínseca da membrana aumentou 225 vezes, indicando uma considerável restrição nos poros do suporte causada pela deposição de material.

Para M_{Rev} , não foi possível fazer a limpeza manual da superfície da membrana após a filtração para remoção da torta, visto que essa ação removeria também parte da camada de recobrimento da membrana. Ainda assim, foi possível estimar um valor conjunto de resistência que a formação de torta e o entupimento de poros causaram no sistema.

Tanto para M_{10} quanto para M_{150} , a maior contribuição para o decaimento do fluxo veio da concentração por polarização (R_P), um fenômeno que ocorre naturalmente quando a concentração de soluto próxima à superfície da membrana é maior que na mistura da solução de alimentação. Já a menor contribuição de resistência veio dos processos de incrustação: reversível (R_C) para M_{10} e irreversível (R_A) para M_{150} .

Gerke *et al.* (2017) também reportam que a camada polarizada pode ser considerada o maior fenômeno de resistência no processo de microfiltração de extrato de erva-mate (*Ilex paraguairensis*), tendo participação de 66% na resistência total avaliada. O mesmo é válido para Argyle e Bird (2015), que definem a polarização por concentração como o mecanismo dominante de resistência na clarificação de extrato de chá preto (*Camellia sinensis*) por microfiltração. Os autores concluem que a alta concentração de sólidos na alimentação favoreceu a formação de um gradiente de concentração próximo à superfície da membrana. Além da concentração de sólidos, a presença de sais inorgânicos pode causar polarização e limitar o processo de ultrafiltração, como sugerido por Wang *et al.* (2012), na avaliação do tratamento do caldo de fermentação de ácido succínico.

O trabalho de Sun *et al.* (2018) busca avaliar parâmetros de operação que podem influenciar os mecanismos de resistência. Os autores indicam que as resistências individuais aumentam com o aumento da pressão transmembrana, com exceção da resistência natural da membrana (R_M), que é independente das condições de operação. Verificam também que a concentração por polarização (R_C) se torna a resistência dominante quando o sistema é operado em altas pressões. Este fato pode ser um indicativo do que aconteceu nesta pesquisa, onde foi aplicada pressão de 5 bar para ultrafiltração com M_{10} . Quanto ao efeito da velocidade de *cross-flow*, é comentado que R_C diminuiu com o aumento da velocidade, devido ao aumento da turbulência do sistema. E quanto ao efeito da temperatura, as resistências no geral diminuiram com o aumento desta variável, devido à maior difusão dos sólidos.

Sobre as formas de minimizar os efeitos da polarização por concentração, além do aumento da velocidade de *cross-flow*, pode-se utilizar promotores de turbulência no módulo da membrana de modo a promover um fluxo turbulento. Quanto à minimização dos efeitos de incrustação na membrana, Sousa *et al.* (2016) verificaram que a utilização de ultrassom durante o processo de ultrafiltração de extrato de chá-

verde (*Camellia sinensis*) teve efeito na redução da formação de torta e na redução do bloqueio de poros.

4.5. CARACTERIZAÇÃO DO PERMEADO

4.5.1. Pelas análises físico-químicas

Assim como o extrato bruto (corrente de alimentação) foi caracterizado em etapa pré-filtração, também foram realizadas análises para caracterizar as correntes de permeado em etapa pós-filtração. Os resultados das principais análises físico-químicas do permeado, para as 3 membranas avaliadas, são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Variação das características do extrato aquoso de alfavaca-cravo após a ultrafiltração

		Alimentação	M ₁₀	M ₁₅₀	M _{Rev}
Cor	TPC (mg _{EAG} ·g _{extrato} ⁻¹)	340,22 ± 1,82	170,89 ± 4,02	202,90 ± 5,02	22,66 ± 0,82
	Sólidos totais (%)	0,230 ± 0,038	0,083 ± 0,026	0,168 ± 0,009	0,033 ± 0,011
	Sólidos solúveis (°Bx)	0,4	0,2	0,4	0,2
Turbidez (NTU)		29,5 ± 2,1	4,7 ± 0,07	20,5 ± 0,7	14,5 ± 1,4
DPPH (μM _{ET} ·g ⁻¹)		2493,54 ± 77,61	402,47 ± 5,31	1450,58 ± 20,38	95,55 ± 8,90
ABTS (μM _{ET} ·g ⁻¹)		2669,57 ± 37,42	611,88 ± 10,25	1466,67 ± 40,99	318,65 ± 3,35
	L*	89,95 ± 0,007	92,75 ± 0,028	90,88 ± 0,007	93,88 ± 0,035
	a*	-1,10 ± 0,007	-0,33 ± 0,007	-0,76 ± 0,000	0,27 ± 0,000
	b*	13,96 ± 0,000	2,84 ± 0,007	7,67 ± 0,007	2,30 ± 0,000

Fonte: o autor

Pode-se observar que o processo de ultrafiltração com a membrana de 10 kDa mudou as características do extrato de forma mais pronunciada que a ultrafiltração com a membrana de 150 kDa. A ultrafiltração com M₁₀ foi capaz de reduzir de forma significativa os sólidos totais e a turbidez, contabilizando uma remoção de 64% dos sólidos e uma redução de 84% no caráter turvo da alimentação. Por sua vez, M₁₅₀ reduziu 27% dos sólidos totais presentes na alimentação e 30,5% da turbidez.

O permeado obtido com M₁₀ manteve cerca de 50% dos compostos fenólicos totais, o que pode indicar que ainda existe grande quantidade de compostos com peso molecular menor que 10 kDa. Em relação a M₁₅₀, cerca de 60% do teor de TPC foi mantido na corrente de permeado. A capacidade antioxidante do extrato continua presente mesmo após filtração. Era esperado que a diminuição da quantidade de compostos fenólicos na corrente de permeado implicasse diretamente em diminuição da capacidade antioxidante nesta corrente, o que foi observado neste estudo.

A mudança de cor do extrato pode indicar que os compostos que dão coloração ao chá, provavelmente o grupo das catequinas, não atravessam os poros de M₁₀ (nem de M_{Rev}) e são concentradas na corrente de retentado. Também pode ser um indicador de que estas moléculas sofrem degradação em altas pressões, alterando a coloração do meio. Em relação ao indicador de cor do extrato, no sistema CIE (L*, a*, b*), M₁₀ conseguiu aumentar a luminosidade e reduzir a contribuição do tom verde (-a) e do tom amarelo (+b). Este mesmo comportamento foi observado com M₁₅₀, mas de forma mais moderada.

Os resultados aqui obtidos corroboram a ideia de que, para um objetivo de purificação, a membrana de 10 kDa é mais indicada por ser mais restritiva, enquanto a membrana de 150 kDa é mais voltada para a clarificação do extrato.

Sousa *et al.* (2016) utilizaram processo de microfiltração com membrana de 0,8 µm para processar extrato de chá verde, obtendo uma redução de 94% na turbidez, 4% no teor de compostos fenólicos e 8% na quantidade de sólidos totais. Os autores concluem que a microfiltração é eficiente para clarificar o extrato. Sugerem ainda que a utilização de membrana de 20 kDa com assistência de ultrassom é adequada para purificar catequinas com alta pureza e estabilidade.

Ferreira *et al.* (2021) observaram que o processo de microfiltração também é eficiente para clarificar o extrato de araçá-roxo (*Psidium myrtilloides*), promovendo

redução de sólidos totais e de turbidez, sem afetar a quantidade de compostos bioativos.

Cassano, Donato e Drioli (2007) utilizaram membrana de ultrafiltração de 15 kDa para a clarificação de suco de kiwi e conseguiram resultados de redução total nos sólidos suspensos e na turbidez. Houve ainda redução de 16% no teor de ácido ascórbico, mas com apenas 7,8% de diminuição da capacidade antioxidante.

Gerke *et al.* (2017) avaliaram que a membrana de ultrafiltração de PES de 50 kDa foi capaz de reduzir a turbidez inicial do extrato de erva-mate para valor próximo de 0. Houve ainda rejeição de bioativos entre 18,3 e 35,5% na ultrafiltração. Quanto à membrana de microfiltração de PEI de 0,44 μm , a rejeição de compostos bioativos foi menor (11 a 15,5%), indicando que o extrato clarificado por microfiltração contém mais compostos bioativos do que o clarificado pela ultrafiltração.

4.5.2. Pelas análises cromatográficas

Sete ácidos fenólicos, presentes no extrato de alfavaca-cravo, foram quantificados por método cromatográfico. Os parâmetros de calibração (coeficientes angular e linear), os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) e o tempo médio de retenção, para cada ácido fenólico avaliado, são apresentados na Tabela 10.

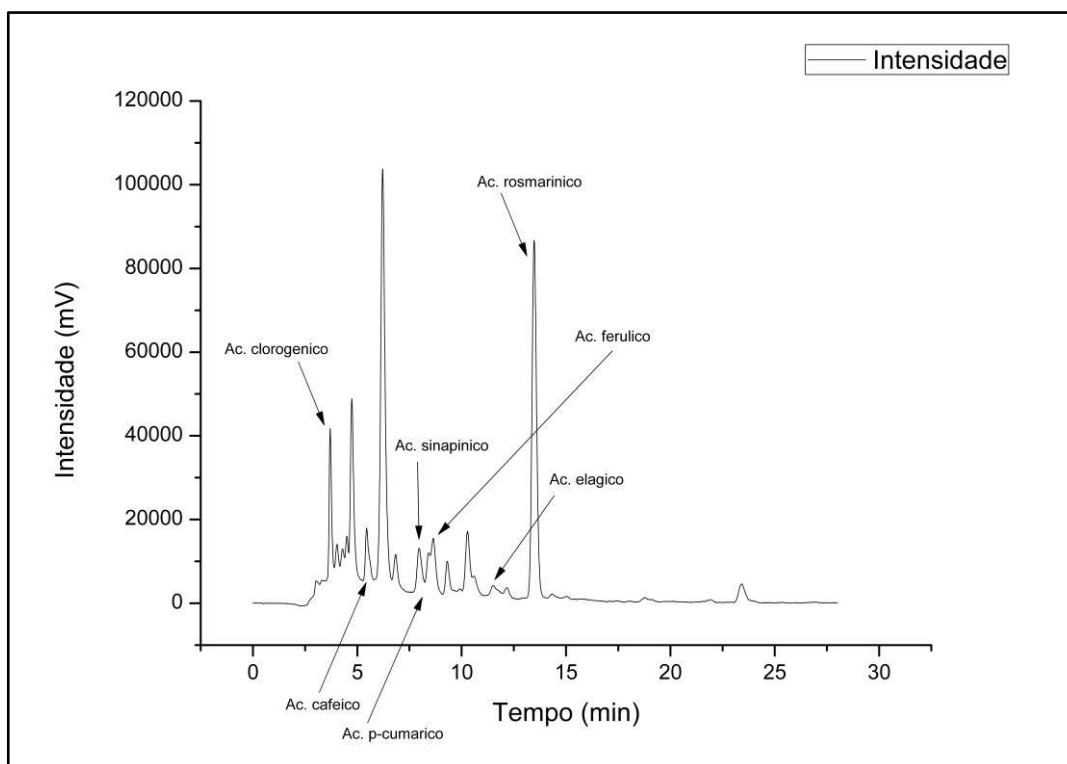
Tabela 10 – Parâmetros da análise cromatográfica dos ácidos fenólicos

Ácido fenólico	Coeficiente angular (10^{-5})	Coeficiente linear	R^2	LD ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	LQ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Tempo de retenção (min)
Ácido cafeico	2,195	-4,790	0,9866	0,06	0,21	$5,432 \pm 0,010$
Ácido clorogênico	3,310	0,166	0,9989	0,11	0,36	$3,773 \pm 0,013$
Ácido elágico	13,897	0,039	0,9994	0,38	1,28	$11,546 \pm 0,032$
Ácido ferúlico	1,987	-0,456	0,9999	0,07	0,22	$8,345 \pm 0,036$
Ácido p-cumárico	2,488	-0,875	0,9995	0,06	0,20	$8,048 \pm 0,044$
Ácido rosmarínico	3,645	-0,537	0,9998	0,16	0,52	$13,613 \pm 0,074$
Ácido sinapínico	2,157	-0,736	0,9991	0,07	0,22	$7,775 \pm 0,020$

Fonte: o autor

Para a quantificação, todas as correntes envolvidas no processo de ultrafiltração foram submetidas ao método cromatográfico. O cromatograma de um extrato bruto de alfavaca-cravo é ilustrado na Figura 19. Os resultados para os ácidos fenólicos presentes no extrato bruto, no permeado e no retentado, para as três membranas utilizadas, são apresentados na Tabela 11.

Figura 19 – Cromatograma de extrato bruto de alfavaca-cravo



Fonte: o autor

Dentre os ácidos fenólicos avaliados neste trabalho, as maiores concentrações foram encontradas para o ácido rosmarínico ($22,18 \pm 0,16 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$), o ácido elágico ($9,92 \pm 0,29 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$) e o ácido clorogênico ($5,96 \pm 0,34 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$).

Tabela 11 – Concentração dos ácidos fenólicos avaliados nas correntes de filtração das diferentes membranas

Ácido fenólico (mg·g⁻¹)	M₁₀			M₁₅₀		M_{Rev}	
	Extrato bruto	Permeado	Retentado	Permeado	Retentado	Permeado	Retentado
Ácido cafeico	0,98 ± 0,29	ND	3,33 ± 0,10	0,71 ± 0,21	1,90 ± 0,15	ND	1,83 ± 0,16
Ácido clorogênico	5,96 ± 0,34	1,61 ± 0,09	9,92 ± 0,56	4,77 ± 0,27	6,98 ± 0,39	1,04 ± 0,06	7,53 ± 0,27
Ácido elágico	9,92 ± 0,29	1,37 ± 0,04	15,57 ± 0,46	5,09 ± 0,15	12,86 ± 0,37	ND	8,37 ± 0,25
Ácido ferúlico	2,31 ± 0,09	0,13 ± 0,01	3,90 ± 0,15	1,49 ± 0,06	2,73 ± 0,11	ND	2,05 ± 0,08
Ácido p-cumárico	1,34 ± 0,09	0,19 ± 0,01	1,98 ± 0,13	1,26 ± 0,08	1,85 ± 0,12	0,10 ± 0,01	2,24 ± 0,05
Ácido rosmarínico	22,18 ± 0,16	10,53 ± 0,07	25,19 ± 0,18	16,14 ± 0,12	18,14 ± 0,13	2,91 ± 0,02	20,68 ± 0,15
Ácido sinapínico	2,13 ± 0,32	0,12 ± 0,02	4,28 ± 0,64	0,86 ± 0,13	1,99 ± 0,30	ND	1,92 ± 0,29

Fonte: o autor

Zgórka e Glowniak (2001) comentam que o ácido rosmarínico foi o ácido fenólico mais proeminente nas lamiáceas que avaliaram. Para a espécie *Ocimum basilicum*, o teor de ácido rosmarínico foi aproximadamente $11,50 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ e de ácido cafeico foi aproximadamente $2,70 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$. Ácidos como p-cumárico e ferúlico não foram identificados nas amostras de *Ocimum basilicum*, mas foram detectados em alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).

O trabalho de Wang, Provan e Helliwell (2004) avaliou a presença dos ácidos rosmarínico e cafeico em ervas aromáticas. Os autores não investigaram espécies do gênero *Ocimum*, mas reportaram resultados para alecrim e hortelã-verde (*Mentha spicata* L.), por exemplo. O teor de ácido rosmarínico encontrado no alecrim foi de $11,0 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ e na hortelã-verde foi de $14,3 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$, valores inferiores aos obtidos nesta pesquisa para *Ocimum gratissimum* L. Já o teor de ácido cafeico obtido no alecrim foi de $0,1 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ e na hortelã-verde foi de $0,3 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$. Estes resultados reforçam o baixo teor de ácido cafeico nas espécies da família Lamiaceae.

O trabalho de Skendi, Irakli e Chatzopoulou (2017) avaliou extratos de lamiáceas encontradas na Grécia. Os autores encontraram teor de $0,52 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ de ácido rosmarínico em extrato aquoso de alecrim, $0,73 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ em extrato de tomilho-cabeçudo (*Thymus capitatus* L.) e $0,46 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ em extrato de melissa (*Melissa officinalis* L.), valores inferiores aos reportados nesta pesquisa. O ácido sinapínico não foi detectado no tomilho-cabeçudo ou no alecrim, e foi identificado com concentração baixa ($0,015 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$) no orégano (*Origanum vulgare* ssp *hirtum* L.). O ácido p-cumárico foi encontrado em concentração de $0,096 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ no extrato de tomilho-cabeçudo e de $0,052 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$ no extrato de alecrim.

Ao reportar os dados em função da massa de matriz vegetal utilizada para extração, foi encontrado nesta pesquisa um conteúdo de $1,45 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido clorogênico, $5,21 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido rosmarínico, e $0,28 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido cafeico, por exemplo.

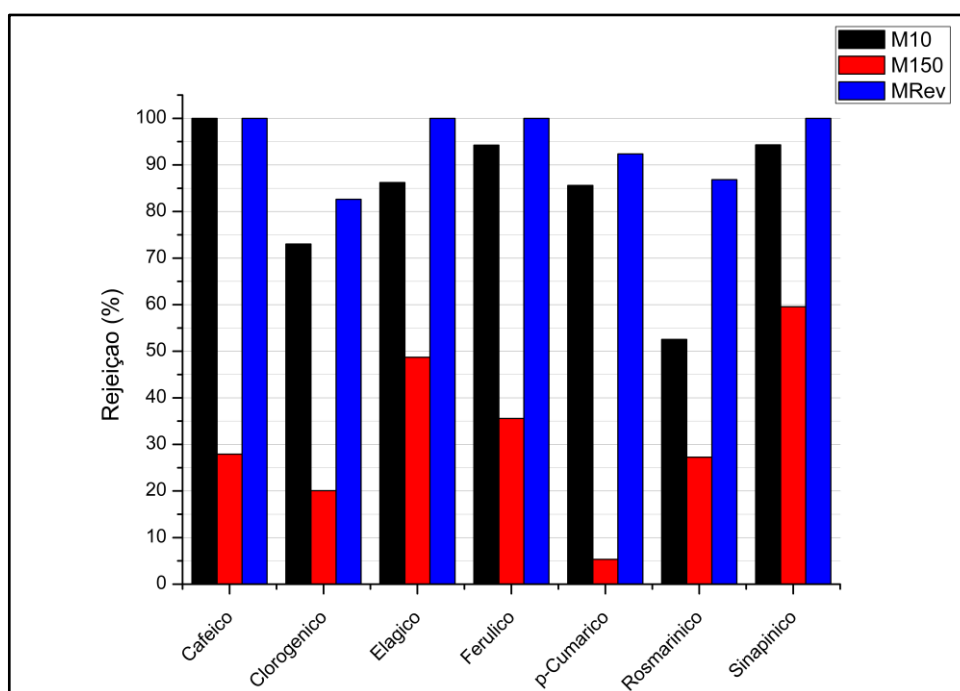
Chaowuttikul, Palanuvej e Ruangrunsi (2020) quantificaram o conteúdo dos ácidos clorogênico, rosmarínico e cafeico em 100 plantas medicinais encontradas na Tailândia. Em *Ocimum gratissimum* L. foi encontrado um teor de $1,89 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido clorogênico, $17,56 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido rosmarínico, e $2,40 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido cafeico. Em *Ocimum basilicum* foram encontrados $2,43 \text{ mg} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido

clorogênico, 5,97 $\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido rosmarínico, e 3,11 $\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{material}}^{-1}$ de ácido cafeico. Os resultados desta pesquisa estão na mesma ordem de grandeza dos reportados pelos autores, mas vale ressaltar a possível variação nos compostos devido à espécie, localização, condições de cultivo e processos de extração.

Liu *et al.* (2013) avaliaram o extrato de amostras de *Perilla frutescens* (L.) Britt, obtidas em diferentes localidades, e encontraram teor de ácido rosmarínico variando de 0,83 $\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{material}}^{-1}$ a 14,98 $\text{mg}\cdot\text{g}_{\text{material}}^{-1}$. Para além dessa diferença, os autores afirmam que a concentração de ácido rosmarínico nas folhas foi superior ao dobro da encontrada nos frutos ou no caule.

Como visto, o extrato de alfavaca-cravo contém ácidos fenólicos importantes e em concentração considerável. O processo de ultrafiltração aplicado buscou purificar os extratos e avaliar a presença dos compostos de interesse nas correntes de permeado e de retentado. O fator de rejeição dos ácidos fenólicos, para cada membrana, é apresentado na Figura 20 e sumariza os dados da Tabela 11. Uma membrana com alto coeficiente de rejeição permite obter extratos mais concentrados e um permeado sem a presença de solutos.

Figura 20 – Taxa de rejeição dos ácidos fenólicos pelas membranas de ultrafiltração



Fonte: o autor

A membrana M₁₅₀, de poros mais abertos, não foi capaz de reter nenhum dos ácidos fenólicos completamente. O ácido de menor peso molecular, ácido p-cumárico, foi o menos rejeitado pela membrana. Nota-se a característica pouca seletiva da membrana e a aplicabilidade para separação de compostos grandes.

A membrana M₁₀, por sua vez, foi capaz de reter o ácido cafeico completamente e apresentou rejeição superior a 70% para todos os outros ácidos fenólicos, à exceção do ácido rosmarínico (52%). A princípio, esta membrana seria eficiente para concentrar o extrato, aumentando o teor dos compostos de interesse no retentado.

A membrana M_{Rev}, uma modificação de M₁₅₀, foi capaz de reter quatro dos ácidos fenólicos completamente e apresentou rejeição acima de 80% para os outros três ácidos. Percebe-se que a corrente de permeado possui apenas traços dos ácidos com maior peso molecular, rosmarínico e clorogênico. A deposição de OG/EDA na membrana, portanto, aumentou o coeficiente de rejeição da membrana e a seletividade dos compostos.

Gerke *et al.* (2017), ao avaliarem a clarificação do extrato de erva-mate, reportaram um coeficiente de rejeição do ácido clorogênico de 22,0%, usando membrana de ultrafiltração de PES de 50 kDa. Peshev *et al.* (2011) reportaram alta taxa de rejeição do ácido cafeico (93,9%) e do ácido rosmarínico (99,7%) quando utilizaram membrana de nanofiltração de poli-imida de 200 Da para concentrar extrato etanólico de alecrim. Os autores comentam que a membrana deve conciliar alta rejeição do composto e alto fluxo de permeado, a fim de evitar a perda do composto para a corrente de permeado. Nesta pesquisa, ao trabalhar com M_{Rev}, não foi possível obter alto fluxo de permeado, talvez devido à grande restrição que a camada depositada impôs à membrana.

Diante do exposto, esta pesquisa evidencia contribuições significativas quanto à utilização de membranas na clarificação de extratos e à valorização de plantas subutilizadas. Foi verificada a possibilidade de se obter extratos de plantas medicinais com grande quantidade de compostos bioativos utilizando água como solvente, o que torna o processo ambientalmente amigável. Foi também apresentada a possibilidade de utilização de um nanomaterial (óxido de grafeno) na modificação de membranas poliméricas, de modo a melhorar as características e propriedades da membrana.

5. CONCLUSÃO

Este trabalho avaliou a retenção de compostos bioativos do extrato de alfavaca-cravo pelo uso de filtração com membranas poliméricas. Pela cinética de extração, se estabeleceu que o tempo de equilíbrio foi 120 min. O modelo de pseudo-segunda ordem foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais.

O extrato aquoso apresentou conteúdo de compostos fenólicos totais de $340,22 \pm 1,82 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$, ou ainda $78,25 \pm 0,42 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}_{\text{material}}^{-1}$. Os dados coletados estão na mesma ordem de grandeza de extrações que utilizaram solventes orgânicos e superiores a dados de extrações de espécies do mesmo gênero. Para o método de DPPH, a capacidade antioxidante do extrato retornou valores de $2493,54 \pm 77,61 \mu\text{M}_{\text{ET}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$, com $34,57 \pm 1,05 \%$ de inibição de radical. Para o método de ABTS, foram obtidos $2597,10 \pm 175,52 \mu\text{M}_{\text{ET}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$. Em relação à turbidez do extrato bruto, foi obtido o valor de $29,5 \pm 2,1 \text{ NTU}$, e em relação aos sólidos totais, foi obtido um teor de $0,230 \pm 0,038 \%$.

Três membranas de ultrafiltração foram avaliadas nos ensaios: membrana de PES de 10 kDa, com permeabilidade de $23,10 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{bar}^{-1}$; membrana de PES de 150 kDa, com permeabilidade de $222,11 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{bar}^{-1}$; e membrana de 150 kDa revestida com OG/EDA, com permeabilidade de $0,98 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{bar}^{-1}$. O declínio de permeabilidade após o revestimento indica maior restrição da membrana e possível entupimento de poros.

Quanto à modelagem de decaimento de fluxo, a formação de torta ($n = 0$) teve maior contribuição nas membranas. Para a membrana de 150 kDa, todos os mecanismos contribuíram de forma expressiva. Para a membrana revestida, o ajuste não foi satisfatório.

Sobre o modelo de resistências em série, a resistência devido à polarização por concentração foi a de maior efeito nas membranas de 10 kDa e de 150 kDa. Para a membrana revestida, o conjunto de formação de torta e de entupimento dos poros exerceu maior resistência.

Após a filtração com a membrana de 10 kDa, foi possível contabilizar uma redução de 64% no teor de sólidos totais e de 84% na turbidez, em relação ao extrato bruto. O permeado continha $170,89 \pm 4,02 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$. Após a filtração com a

membrana de 150 kDa, foi percebida uma redução de 27% no teor de sólidos totais e de 30,5% na turbidez. O permeado continha $202,90 \pm 5,02 \text{ mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{g}_{\text{extrato}}^{-1}$.

A respeito da concentração de ácidos fenólicos, a membrana de 10 kDa reteve acima de 70% de 6 dos 7 ácidos fenólicos avaliados. A membrana revestida com OG/EDA foi responsável por uma retenção integral de 4 ácidos fenólicos e rejeição acima de 80% dos outros 3 compostos avaliados. A modificação da membrana, portanto, aumentou o coeficiente de rejeição e a seletividade da membrana. Nos dois casos houve concentração em alguma proporção de compostos bioativos com a operação de ultrafiltração.

Todos os dados coletados permitem concluir que a operação de ultrafiltração, independente da membrana, foi eficiente para clarificar e concentrar o extrato de alfavaca-cravo. A membrana polimérica de 10 kDa, por ser mais fechada que a membrana de 150 kDa, retém mais contribuintes de cor, mas ainda permite a passagem de compostos fenólicos de baixo peso molecular. A membrana revestida tornou-se ainda mais restritiva ao fluxo de extrato do que as anteriores. Os dados se revelam promissores para a aplicação deste processo de separação no processamento de extratos de plantas medicinais.

5.1. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros relacionados a este tema, sugere-se:

- Promover a extração aquosa de compostos fenólicos das folhas de alfavaca-cravo por métodos não-convencionais, como o emprego de ultrassom, de micro-ondas e de enzimas;
- Realizar a extração aquosa de compostos fenólicos das sementes de alfavaca-cravo e identificar compostos de interesse no extrato obtido;
- Analisar a estabilidade do extrato de alfavaca-cravo e dos compostos bioativos presentes nele com o tempo;
- Expandir a investigação dos efeitos das variáveis operacionais na esfoliação do óxido de grafeno por sonda ultrassônica;
- Avaliar diferentes métodos de deposição de óxido de grafeno em membranas;

- Utilizar fibras ocas cerâmicas para ultrafiltração do extrato aquoso de alfavaca-cravo;
- Investigar a possibilidade de reuso de membranas de ultrafiltração e sua recuperação.

REFERÊNCIAS

- AGU, Chinedu Matthew; MENKITI, Matthew Chukwudi; OHALE, Paschal Enyinnaya; UGONABO, Victor Ifeanyi. Extraction modeling, kinetics, and thermodynamics of solvent extraction of *Irvingia gabonensis* kernel oil, for possible industrial application. **Engineering Reports**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 1–25, 2021. DOI: 10.1002/eng2.12306.
- AKINMOLADUN, Afolabi C.; IBUKUN, Emmanuel O.; AFOR, Emmanuel; OBUOTOR, Efere M.; FAROMBI, E. Olatunde. Phytochemical constituent and antioxidant activity of extract from the leaves of *Ocimum gratissimum*. **Scientific Research and Essay**, [S. l.], v. 2, n. May, p. 163–166, 2007.
- ALARA, Oluwaseun Ruth; ABDURAHMAN, Nour Hamid; UKAEGBU, Chinonso Ishamel. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current Research in Food Science**, [S. l.], v. 4, n. December 2020, p. 200–214, 2021. DOI: 10.1016/j.crfs.2021.03.011.
- ALKHOUZAAM, Abedalkader; QIBLAWEY, Hazim; KHRAISHEH, Majeda; ATIEH, Muataz; AL-GHOUTI, Mohammad. Synthesis of graphene oxides particle of high oxidation degree using a modified Hummers method. **Ceramics International**, [S. l.], v. 46, n. 15, p. 23997–24007, 2020. DOI: 10.1016/j.ceramint.2020.06.177.
- ANGELO, Priscila Milene; JORGE, Neuza. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, [S. l.], v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.
- ANUSMITHA, Koolamchal Madhu; ARUNA, Mundakani; JOB, Joice Tom; NARAYANANKUTTY, Arunaksharan; PB, Benil; RAJAGOPAL, Rajakrishnan; ALFARHAN, Ahmed; BARCELO, Damia. Phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory, anti-genotoxic, and anticancer activities of different *Ocimum* plant extracts prepared by ultrasound-assisted method. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, [S. l.], v. 117, n. November 2021, p. 101746, 2022. DOI: 10.1016/j.pmpp.2021.101746.
- ARGYLE, Iain S.; BIRD, Michael R. Microfiltration of high concentration black tea streams for haze removal using polymeric membranes. **Desalination and Water Treatment**, [S. l.], v. 53, n. 6, p. 1516–1531, 2015. DOI: 10.1080/19443994.2014.953401.
- AWAH, Francis M.; VERLA, Andrew W. Antioxidant activity, nitric oxide scavenging activity and phenolic contents of *Ocimum gratissimum* leaf extract. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S. l.], v. 4, n. 23, p. 2479–2487, 2010. DOI: 10.5897/JMPR10.262.
- BACCHETTA, Loretta; VISIOLI, Francesco; CAPPELLI, Giulia; CARUSO, Emily; MARTIN, Gary; NEMETH, Eva; BACCHETTA, Gianni; BEDINI, Gianni; WEZEL, Alexander; VAN ASSELDONK, Tedje; VAN RAAMSDONK, Leo; MARIANI, Francesca. A manifesto for the valorization of wild edible plants. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 191, p. 180–187, 2016. DOI: 10.1016/j.jep.2016.05.061.
- BALYAN, Upasna; SARKAR, Biswajit. Aqueous extraction kinetics of phenolic compounds from jamun (*Syzygium cumini* L.) seeds. **International Journal of Food Properties**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 372–389, 2017. DOI: 10.1080/10942912.2016.1163266.

BALYAN, Upasna; VERMA, Satya Pal; SARKAR, Biswajit. Phenolic compounds from *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves: Extraction and membrane purification. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, [S. l.], v. 12, n. November 2018, p. 43–58, 2019. DOI: 10.1016/j.jarmap.2018.12.002.

BERNHOF, Aksel. Bioactive Compounds in Plants: Benefits and Risks for Man and Animals. In: (Novus Forlag, Org.) PROCEEDINGS FROM A SYMPOSIUM HELD IN NORWEGIAN ACADEMY OF SCIENCE AND LETTERS 2010, Oslo. **Anais** [...]. Oslo p. 255.

BINDES, Marlon Menezes Maciel; TERRA, Natália Mazzarioli; PATIENCE, Gregory Scott; BOFFITO, Daria Camilla; CARDOSO, Vicelma Luiz; REIS, Miria Hespanhol Miranda. Asymmetric Al₂O₃ and PES/Al₂O₃ hollow fiber membranes for green tea extract clarification. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 277, n. December 2019, p. 1–10, 2020. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.109889.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

CASSANO, A.; DONATO, L.; DRIOLI, E. Ultrafiltration of kiwifruit juice: Operating parameters, juice quality and membrane fouling. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 79, n. 2, p. 613–621, 2007. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.02.020.

CHAOWUTTIKUL, Chayanon; PALANUVEJ, Chanida; RUANGRUNGSI, Nijsiri. Quantification of chlorogenic acid, rosmarinic acid, and caffeic acid contents in selected thai medicinal plants using RP-HPLC-DAD. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 56, 2020. DOI: 10.1590/s2175-97902019000317547.

CHERYAN, Munir. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. [s.l.] : CRC Press, 1998. DOI: 10.1201/9781482278743.

CHHAYA; SHARMA, Chandan; MONDAL, Sourav; MAJUMDAR, G. C.; DE, Sirshendu. Clarification of Stevia extract by ultrafiltration: Selection criteria of the membrane and effects of operating conditions. **Food and Bioproducts Processing**, [S. l.], v. 90, n. 3, p. 525–532, 2012. DOI: 10.1016/j.fbp.2011.10.002.

COULTATE, Tom P. **Food: The Chemistry of Its Components**. 5th. ed. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2009.

DAI, Jin; MUMPER, Russell J. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, [S. l.], v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010. DOI: 10.3390/molecules15107313.

DE SOUZA, Thais C. Lima; DA SILVEIRA, Tayse Ferreira; RODRIGUES, Maria Isabel; RUIZ, Ana Lucia T. Gois; NEVES, Daniela Andrade; DUARTE, Marta C. Teixeira; CUNHA-SANTOS, Elenice C. Emidio; KUHNLE, Gunter; RIBEIRO, Alessandra Braga; GODOY, Helena Teixeira. A study of the bioactive potential of seven neglected and underutilized leaves consumed in Brazil. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 364, n. May, p. 130350, 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.130350.

DIMIEV, Ayrat M. Mechanism of Formation and Chemical Structure of Graphene Oxide. In: **Graphene Oxide: Fundamentals and Applications**. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd, 2016. p. 36–84. DOI: 10.1002/9781119069447.ch2.

DJENDOUBI MRAD, Nadia; BOUDHRIUA, Nourhène; KECHAOU, Nabil; COURTOIS, Francis; BONAZZI, Catherine. Influence of air drying temperature on kinetics, physicochemical properties, total phenolic content and ascorbic acid of pears. **Food and Bioproducts Processing**, [S. l.], v. 90, n. 3, p. 433–441, 2012. DOI: 10.1016/j.fbp.2011.11.009.

DOMINGUES, Rui Carlos Castro; RAMOS, Amanda Araújo; CARDOSO, Vicelma Luiz; REIS, Miria Hespanhol Miranda. Microfiltration of passion fruit juice using hollow fibre membranes and evaluation of fouling mechanisms. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 121, n. 1, p. 73–79, 2014. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.07.037.

FERREIRA, Franz Berbert; MAGALHÃES, Flávia de Santana; CARDOSO, Vicelma Luiz; REIS, Miria Hespanhol Miranda. Enhanced conditions to obtain a clarified purple araçá (*Psidium myrtilloides*) fruit extract. **Journal of Food Process Engineering**, [S. l.], v. 44, n. 1, p. 1–10, 2021. DOI: 10.1111/jfpe.13607.

FIELD, Robert W.; WU, Jun Jie. Modelling of permeability loss in membrane filtration: Re-examination of fundamental fouling equations and their link to critical flux. **Desalination**, [S. l.], v. 283, p. 68–74, 2011. DOI: 10.1016/j.desal.2011.04.035.

GERKE, Isabel B. B.; HAMERSKI, Fabiane; SCHEER, Agnes P.; SILVA, Vitor R. Clarification of crude extract of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) by membrane processes: Analysis of fouling and loss of bioactive compounds. **Food and Bioproducts Processing**, [S. l.], v. 102, p. 204–212, 2017. DOI: 10.1016/j.fbp.2016.12.008.

GUERRERO-CONTRERAS, Jesus; CABALLERO-BRIONES, F. Graphene oxide powders with different oxidation degree, prepared by synthesis variations of the Hummers method. **Materials Chemistry and Physics**, [S. l.], v. 153, p. 209–220, 2015. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2015.01.005.

HABERT, Alberto Cláudio; BORGES, Cristiano Piacsek; NOBREGA, Ronaldo. **Processos de Separação por Membranas**. Rio de Janeiro, BR: Editora E-papers, 2006.

HAROUNA-OUMAROU, Hanatou Adamou; FAUDUET, Henri; PORTE, Catherine; HO, Yuh Shan. Comparison of kinetic models for the aqueous solid-liquid extraction of Tilia sapwood a continuous stirred tank reactor. **Chemical Engineering Communications**, [S. l.], v. 194, n. 4, p. 537–552, 2007. DOI: 10.1080/00986440600992511.

HEFNI, Mohammed E.; AMANN, Laura S.; WITTHÖFT, Cornelia M. A HPLC-UV Method for the Quantification of Phenolic Acids in Cereals. **Food Analytical Methods**, [S. l.], v. 12, n. 12, p. 2802–2812, 2019. DOI: 10.1007/s12161-019-01637-x.

HOBBI, Parinaz; OKORO, Oseweuba Valentine; DELPORTE, Christine; ALIMORADI, Housman; PODSTAWCZYK, Daria; NIE, Lei; BERNAERTS, Katrien V.; SHAVANDI, Amin. Kinetic modelling of the solid-liquid extraction process of polyphenolic compounds from apple pomace: influence of solvent composition and temperature. **Bioresources and Bioprocessing**, [S. l.], v. 8, n. 1, 2021. DOI: 10.1186/s40643-021-00465-4.

HOSSAIN, Mohammad B.; BARRY-RYAN, Catherine; MARTIN-DIANA, Ana B.; BRUNTON, Nigel P. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six

Lamiaceae herbs. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 123, n. 1, p. 85–91, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.04.003.

HUANG, Dejian; BOXIN, O. U.; PRIOR, Ronald L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005. DOI: 10.1021/jf030723c.

HUISMAN, Ingmar H.; DUTRÉ, Benoît; PERSSON, Kenneth M.; TRÄGÅRDH, Gun. Water permeability in ultrafiltration and microfiltration: Viscous and electroviscous effects. **Desalination**, [S. l.], v. 113, n. 1, p. 95–103, 1997. DOI: 10.1016/S0011-9164(97)00118-5.

IBRAHIM, Rasha Y. M.; MANSOUR, Suzan M.; ELKADY, Wafaa M. Phytochemical profile and protective effect of *Ocimum basilicum* aqueous extract in doxorubicin/irradiation-induced testicular injury. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 72, n. 1, p. 101–110, 2020. DOI: 10.1111/jphp.13175.

JAVANMARDI, Jamal; STUSHNOFF, Cecil; LOCKE, E.; VIVANCO, Jorge M. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 83, n. 4, p. 547–550, 2003. DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00151-1.

KINUPP, Valdely Ferreira; LORENZI, Harri. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum De Estudos Da Flora Ltda, 2014.

KONG, Fan-xin; LIU, Qian; DONG, Li-qian; ZHANG, Tong; WEI, Yi-bin; CHEN, Jin-fu; WANG, Yi; GUO, Chun-mei. Rejection of pharmaceuticals by graphene oxide membranes: Role of crosslinker and rejection mechanism. **Journal of Membrane Science**, [S. l.], v. 612, n. May, p. 118338, 2020. DOI: 10.1016/j.memsci.2020.118338.

KUMAR, Abhishek; THAKUR, Barun Kumar; DE, Sirshendu. Selective Extraction of (-)Epigallocatechin Gallate from Green Tea Leaves Using Two-Stage Infusion Coupled with Membrane Separation. **Food and Bioprocess Technology**, [S. l.], v. 5, n. 6, p. 2568–2577, 2012. DOI: 10.1007/s11947-011-0580-0.

KUMAR, Shani; GARG, Amit; CHOWDHURI, Arijit. Sonication effect on graphene oxide (GO) membranes for water purification applications. **Materials Research Express**, [S. l.], v. 6, n. 8, 2019. DOI: 10.1088/2053-1591/ab1ffd.

LE, Giang T. T.; CHANLEK, Narong; MANYAM, Jedsada; OPAPRAKASIT, Pakorn; GRISDANURAK, Nurak; SREEARUNOTHAI, Paiboon. Insight into the ultrasonication of graphene oxide with strong changes in its properties and performance for adsorption applications. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 373, n. April, p. 1212–1222, 2019. DOI: 10.1016/j.cej.2019.05.108.

LI, Bofan; CUI, Yue; JAPIP, Susilo; THONG, Zhiwei; CHUNG, Tai Shung. Graphene oxide (GO) laminar membranes for concentrating pharmaceuticals and food additives in organic solvents. **Carbon**, [S. l.], v. 130, p. 503–514, 2018. DOI: 10.1016/j.carbon.2018.01.040.

LIU, Jing; WAN, Yuklam; ZHAO, Zhongzhen; CHEN, Hubiao. Determination of the content of rosmarinic acid by HPLC and analytical comparison of volatile constituents by GC-MS in different parts of *Perilla frutescens* (L.) Britt. **Chemistry Central Journal**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–11, 2013. DOI: 10.1186/1752-153X-7-61.

MA, Jinxia; PING, Dan; DONG, Xinfu. Recent developments of graphene oxide-based membranes: A review. **Membranes**, [S. l.], v. 7, n. 3, 2017. DOI: 10.3390/membranes7030052.

MACEDO, Gabriela A.; SANTANA, Ádina L.; CRAWFORD, Lauren M.; WANG, Selina C.; DIAS, Fernanda F. G.; DE MOUR BELL, Juliana M. L. N. Integrated microwave- and enzyme-assisted extraction of phenolic compounds from olive pomace. **Lwt**, [S. l.], v. 138, n. November 2019, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2020.110621.

MAGALHÃES, Flávia de Santana; SÁ, Marcelo de Souza Martins; CARDOSO, Vicelma Luiz; REIS, Miria Hespanhol Miranda. Recovery of phenolic compounds from pequi (Caryocar brasiliense Camb.) fruit extract by membrane filtrations: Comparison of direct and sequential processes. **Journal of Food Engineering**, [S. l.], v. 257, n. October 2018, p. 26–33, 2019. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2019.03.025.

MCKEEN, Laurence W. Binders. In: **Fluorinated Coatings and Finishes Handbook**. [s.l.] : Elsevier, 2006. p. 45–58. DOI: 10.1016/B978-081551522-7.50007-8.

MIGUEL, Karolyna Barros; CARDOSO, Vicelma Luiz; REIS, Miria Hespanhol Miranda. Concentration of Pigments and Health-Promoting Bioactive Compounds from Annatto Seeds by Ultrafiltration. **Waste and Biomass Valorization**, [S. l.], n. 0123456789, 2023. DOI: 10.1007/s12649-023-02151-2.

MOHAMMED, Shawqi Ali; NASIR, A. M; AZIZ, F.; KUMAR, G.; SALLEHHUDIN, W.; JAAFAR, J.; LAU, W. J.; YUSOF, N.; SALLEH, W. N. W.; ISMAIL, A. F. CO₂/N₂ selectivity enhancement of PEBAX MH 1657/Aminated partially reduced graphene oxide mixed matrix composite membrane. **Separation and Purification Technology**, [S. l.], v. 223, n. January, p. 142–153, 2019. DOI: 10.1016/j.seppur.2019.04.061.

MONDOR, Martin; GIRARD, B.; MORESOLI, Christine. Modeling flux behavior for membrane filtration of apple juice. **Food Research International**, [S. l.], v. 33, n. 7, p. 539–548, 2000. DOI: 10.1016/S0963-9969(00)00089-2.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI) (2023). PubChem Compound Summary for CID 637775, Sinapinic acid. Retrieved June 02, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sinapinic-acid>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI) (2023). PubChem Compound Summary for CID 5281792, Rosmarinic acid. Retrieved June 02, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rosmarinic-acid>.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI) (2023). PubChem Compound Summary for CID 163320950, Industrial Graphene Oxide. Retrieved June 02, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Industrial-Graphene-Oxide>.

NAVIGLIO, Daniele; PIZZOLONGO, Fabiana; ROMANO, Raffaele; FERRARA, Lydia; NAVIGLIO, Biagio; SANTINI, Antonello. An innovative solid-liquid extraction technology: use of the naviglio extractor for the production of lemon liquor. **African J.Food Sci.**, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 42–50, 2007.

NENADIS, Nikolaos; WANG, Lan-Fen; TSIMIDOU, Maria; ZHANG, Hong-Yu. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS ^{••} Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 52, n. 15, p. 4669–4674, 2004. DOI: 10.1021/jf0400056.

NOOR, Saba; MOHAMMAD, Taj; ABDUL, Malik; RAZA, Ali; AZUM, Naved. Biomedical features and therapeutic potential of rosmarinic acid. **Archives of Pharmacal Research**, [S. l.], v. 45, n. 4, p. 205–228, 2022. DOI: 10.1007/s12272-022-01378-2.

OBOTEY EZUGBE, Elorm; RATHILAL, Sudesh. Membrane Technologies in Wastewater Treatment: A Review. **Membranes**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 89, 2020. DOI: 10.3390/membranes10050089.

OLAMILOSOYE, Kehinde P.; AKOMOLAFE, Rufus O.; AKINSOMISOYE, Olumide S.; ADEFISAYO, Modinat A.; ALABI, Quadri K. The aqueous extract of *Ocimum gratissimum* leaves ameliorates acetic acid-induced colitis via improving antioxidant status and hematological parameters in male Wistar rats. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 220–227, 2018. DOI: 10.1016/j.ejbas.2018.05.006.

ONYEBUCHI, Confidence; KAVAZ, Doğa. Effect of extraction temperature and solvent type on the bioactive potential of *Ocimum gratissimum* L. extracts. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-78847-5.

PADULOSI, Stefano; THOMPSON, Judith; RUDEBJER, Per. **Fighting poverty, hunger and malnutrition with neglected and underutilized species: needs, challenges and the way forward**. Rome: Bioversity International, 2013.

PANDI, Anandakumar; KALAPPAN, Vanitha Manickam. Pharmacological and therapeutic applications of Sinapic acid—an updated review. **Molecular Biology Reports**, [S. l.], v. 48, n. 4, p. 3733–3745, 2021. DOI: 10.1007/s11033-021-06367-0.

PEDRO, Alessandra C.; MOREIRA, Fernanda; GRANATO, Daniel; ROSSO, Neiva Deliberali. Extraction of bioactive compounds and free radical scavenging activity of purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaf extracts as affected by temperature and time. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, [S. l.], v. 88, n. 2, p. 1055–1068, 2016. DOI: 10.1590/0001-3765201620150197.

PEREIRA, Cíntia Alessandra Matiucci; MAIA, June Ferreira. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 624–632, 2007. DOI: 10.1590/S0101-20612007000300030.

PESHEV, Dimitar; PEEVA, L. G.; PEEV, Georgia; BAPTISTA, I. I. R.; BOAM, A. T. Application of organic solvent nanofiltration for concentration of antioxidant extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Chemical Engineering Research and Design**, [S. l.], v. 89, n. 3, p. 318–327, 2011. DOI: 10.1016/j.cherd.2010.07.002.

POWO (2023). **Plants of the World Online**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.plantsoftheworldonline.org/>. Retrieved 02 June 2023.

RIBEIRO, Stella Rodrigues Ferreira Lima; BESSA, Lidiane Pereira; CARDOSO, Vicelma Luiz; REIS, Miria Hespagnol Miranda. Enhanced hydrogen permeance through graphene oxide membrane deposited on asymmetric spinel hollow fiber substrate. **International Journal of Hydrogen Energy**, [S. l.], v. 47, n. 16, p. 9616–9626, 2022. DOI: 10.1016/j.ijhydene.2022.01.049.

ROCHA, Rony P.; MELO, E. C.; RADÜNZ, L. L. Influence of drying process on the quality of medicinal plants: A review. **Journal of Medicinal Plant Research**, [S. l.], v.

5, n. 33, p. 7076–7084, 2011. DOI: 10.5897/JMPRx11.001.

SANTOS, Lára Franco Dos; VARGAS, Bruna Krieger; BERTOL, Charise Dallazem; BIDUSKI, Bárbara; BERTOLIN, Telma Elita; SANTOS, Luciana Ruschel Dos; BRIÃO, Vandrê Barbosa. Clarification and concentration of yerba mate extract by membrane technology to increase shelf life. **Food and Bioproducts Processing**, [S. l.], v. 122, p. 22–30, 2020. DOI: 10.1016/j.fbp.2020.04.002.

SHARIF NASIRIAN, Valeh; SHAHIDI, Seyed Ahmad; TAHERMANSOURI, Hasan; CHEKIN, Fereshteh. Application of graphene oxide in the adsorption and extraction of bioactive compounds from lemon peel. **Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 9, n. 7, p. 3852–3862, 2021. DOI: 10.1002/fsn3.2363.

SHARMA, Shweta; KUMARI, Amita; DHATWALIA, Jyoti; GULERIA, Ishita; LAL, Sohan; UPADHYAY, Navneet; KUMAR, Vikas; KUMAR, Ashwani. Effect of solvents extraction on phytochemical profile and biological activities of two *Ocimum* species: A comparative study. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, [S. l.], v. 25, n. January, p. 100348, 2021. DOI: 10.1016/j.jarmap.2021.100348.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *In: Scientia Horticulturae*. [s.l: s.n.]. v. 213, p. 152–178, 1999. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.

SKENDI, Adriana; IRAKLI, Maria; CHATZOPOULOU, Paschalina. Analysis of phenolic compounds in Greek plants of Lamiaceae family by HPLC. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, [S. l.], v. 6, p. 62–69, 2017. DOI: 10.1016/j.jarmap.2017.02.001.

SOUSA, Larissa dos Santos; CABRAL, Bruna Vieira; MADRONA, Grasielle Scaramal; CARDOSO, Vicelma Luiz; REIS, Miria Hespanhol Miranda. Purification of polyphenols from green tea leaves by ultrasound assisted ultrafiltration process. **Separation and Purification Technology**, [S. l.], v. 168, p. 188–198, 2016. DOI: 10.1016/j.seppur.2016.05.029.

STRATHMANN, Heinrich. Membrane separation processes. **Journal of Membrane Science**, [S. l.], v. 9, n. 1–2, p. 121–189, 1981. DOI: 10.1016/S0376-7388(00)85121-2.

SUKOR, Nuramira Fateha; JUSOH, Rohayu; KAMARUDIN, Nur Syahirah. Intensification of phenolic acids extraction from Aleppo oak via probe type sonication method: Kinetic, antioxidant and cost evaluation. **Chemical Engineering Research and Design**, [S. l.], v. 166, p. 227–236, 2021. DOI: 10.1016/j.cherd.2020.11.019.

SUN, Ye; QIN, Zhen; ZHAO, Liming; CHEN, Qiming; HOU, Qingyun; LIN, Hua; JIANG, Lihua; LIU, Jinchang; DU, Zheng. Membrane fouling mechanisms and permeate flux decline model in soy sauce microfiltration. **Journal of Food Process Engineering**, [S. l.], v. 41, n. 1, 2018. DOI: 10.1111/jfpe.12599.

TAKHT RAVANCHI, Maryam; KAGHAZCHI, Tahereh; KARGARI, Ali. Application of membrane separation processes in petrochemical industry: a review. **Desalination**, [S. l.], v. 235, n. 1–3, p. 199–244, 2009. DOI: 10.1016/j.desal.2007.10.042.

TEODORO, Jessica A.; AREND, Giordana D.; PRONER, Mariane C.; VERRUCK, Silvani. A review on membrane separation processes focusing on food industry environment-friendly processes. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**,

[S. I.], v. 0, n. 0, p. 1–15, 2022. DOI: 10.1080/10408398.2022.2092057.

THAIPONG, Kriengsak; BOONPRAKOB, Unaroj; CROSBY, Kevin; CISNEROS-ZEVALLOS, Luis; HAWKINS BYRNE, David. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. I.], v. 19, n. 6–7, p. 669–675, 2006. DOI: 10.1016/j.jfca.2006.01.003.

UGBOGU, Ositadinma Chinyere; EMMANUEL, Okezie; AGI, Grace Oka; IBE, Chibuike; EKWEOGU, Celestine Nwabu; UDE, Victor Chibueze; UCHE, Miracle Ebubechi; NNANNA, Rachel Oluchukwu; UGBOGU, Eziuche Amadike. A review on the traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities of clove basil (*Ocimum gratissimum* L.). **Heliyon**, [S. I.], v. 7, n. 11, p. e08404, 2021. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e08404.

VENUPRASAD, M. P.; KUMAR KANDIKATTU, Hemanth; RAZACK, Sakina; KHANUM, Farhath. Phytochemical analysis of *Ocimum gratissimum* by LC-ESI-MS/MS and its antioxidant and anxiolytic effects. **South African Journal of Botany**, [S. I.], v. 92, p. 151–158, 2014. DOI: 10.1016/j.sajb.2014.02.010.

VILANOVA, Crisálida Machado; LUZ, Tássio Rômulo Silva Araújo; SILVEIRA, Daniella Patrícia Brandão; COUTINHO, Denise Fernandes; DE MOURA, Emanuel Gomes. *Ocimum Gratissimum* L.: Uma Revisão Das Atividades Farmacológicas Da Espécie E Do Seu Óleo Essencial. **Conexão Ciência (Online)**, [S. I.], v. 14, n. 1, p. 64–78, 2019. DOI: 10.24862/ccco.v14i1.971.

VUONG, Quan V.; GOLDING, John B.; STATHOPOULOS, Costas E.; NGUYEN, Minh H.; ROACH, Paul D. Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water. **Journal of Separation Science**, [S. I.], v. 34, n. 21, p. 3099–3106, 2011. DOI: 10.1002/jssc.201000863.

WANG, Caixia; LI, Qiang; TANG, Huang; YAN, Daojiang; ZHOU, Wei; XING, Jianmin; WAN, Yinhua. Membrane fouling mechanism in ultrafiltration of succinic acid fermentation broth. **Bioresource Technology**, [S. I.], v. 116, p. 366–371, 2012. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.03.099.

WANG, Huaifu; PROVAN, Gordon J.; HELLIWELL, Keith. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. **Food Chemistry**, [S. I.], v. 87, n. 2, p. 307–311, 2004. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.12.029.

YE, Shibing; FENG, Jiachun. The effect of sonication treatment of graphene oxide on the mechanical properties of the assembled films. **RSC Advances**, [S. I.], v. 6, n. 46, p. 39681–39687, 2016. DOI: 10.1039/C6RA03996K.

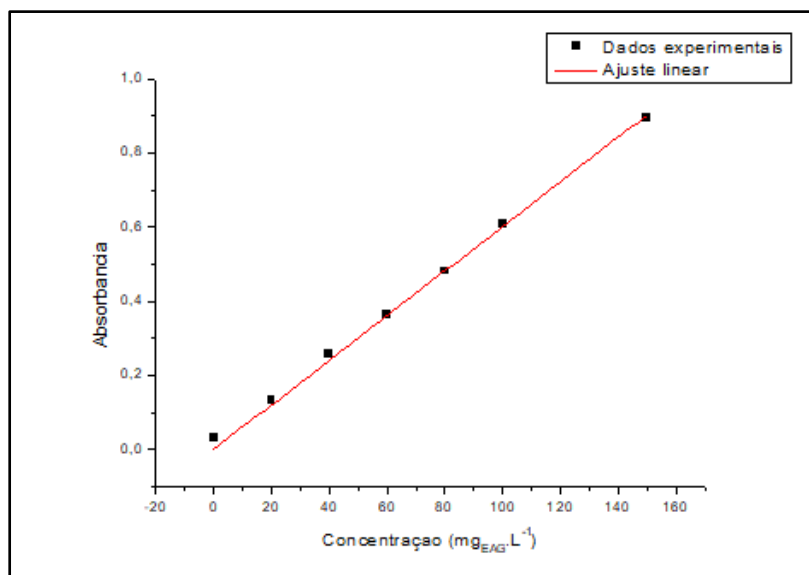
ZGÓRKA, Grayna; GLOWNIAK, Kazimierz. Variation of free phenolic acids in medicinal plants belonging to the Lamiaceae family. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [S. I.], v. 26, n. 1, p. 79–87, 2001. DOI: 10.1016/S0731-7085(01)00354-5.

ZHOU, Fanglei; TIEN, Huynh Ngoc; DONG, Qiaobei; XU, Weiwei L.; LI, Huazheng; LI, Shiguang; YU, Miao. Ultrathin, ethylenediamine-functionalized graphene oxide membranes on hollow fibers for CO₂ capture. **Journal of Membrane Science**, [S. I.], v. 573, n. October 2018, p. 184–191, 2019. DOI: 10.1016/j.memsci.2018.11.080.

ANEXO A – CURVAS ANALÍTICAS

I. Determinação do conteúdo de compostos fenólicos totais

Figura A1 – Curva padrão de ácido gálico (a) e parâmetros da equação (b)

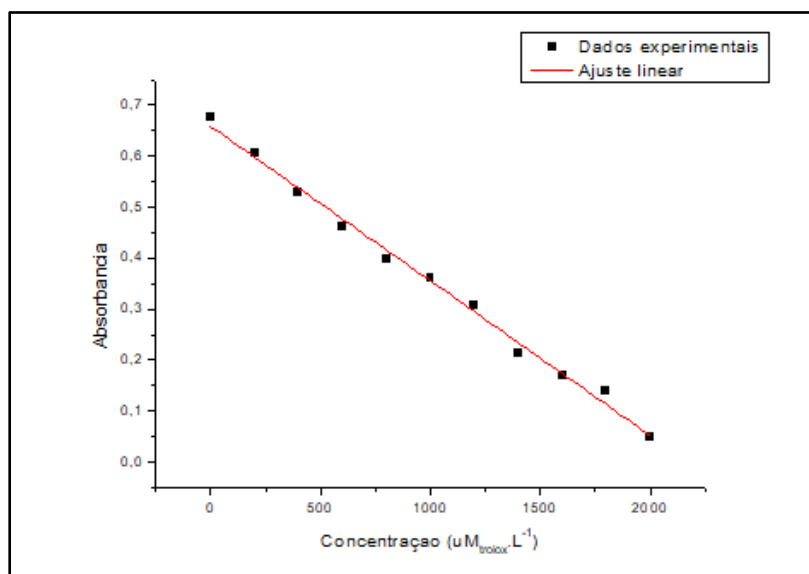


Equation	$y = a + b \cdot x$		
Adj. R-Square	0,9989		
		Value	Standard Error
Abs	Intercept	0	--
Abs	Slope	0,00602	7,55198E-5

Fonte: Laboratório de Processos de Separação por Membranas

II. Determinação do potencial antioxidante pelo método de ABTS

Figura A2 – Curva padrão de trolox para ABTS (a) e parâmetros da equação (b)

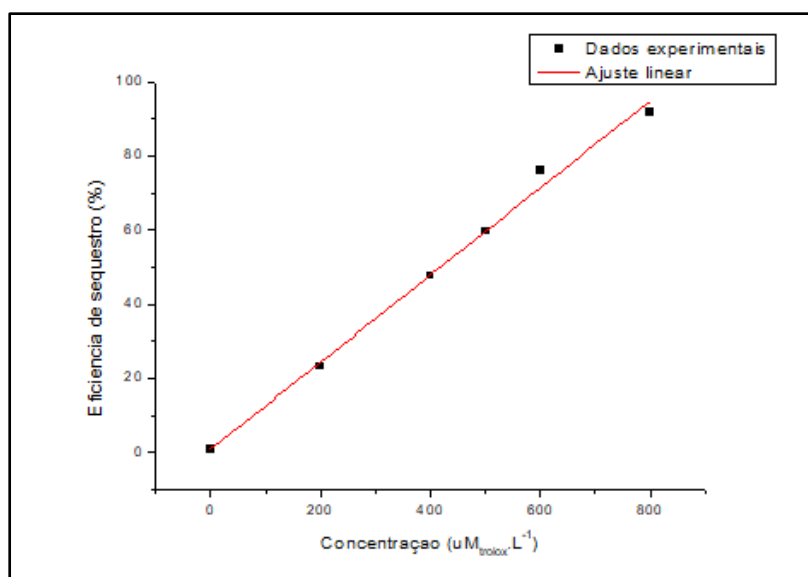


Equation	$y = a + b \cdot x$		
Adj. R-Square	0,99379		
		Value	Standard Error
Abs	Intercept	0,65863	0,00897
Abs	Slope	-3,03326E-4	7,58203E-6

Fonte: Laboratório de Processos de Separação por Membranas

III. Determinação do potencial antioxidante pelo método de DPPH

Figura A3 – Curva padrão de trolox para DPPH (a) e parâmetros da equação (b)



Equation	$y = a + b \cdot x$		
Adj. R-Square	0,99261		
		Value	Standard Error
ef seque	Intercept	0,87278	2,22741
ef seque	Slope	0,11754	0,00453

Fonte: Laboratório de Processos de Separação por Membranas