

ANTIOXIDANTES NATURAIS: TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

DENISE ANDREO*

NEUZA JORGE**

O presente trabalho apresenta uma revisão de literatura que evidencia a importância das substâncias antioxidantes naturais, utilizadas como preservativos alimentares, visando a redução de processos oxidativos em alimentos ricos em óleos ou gorduras. Foram detalhadas as metodologias mais utilizadas na obtenção dos antioxidantes naturais, incluindo a extração convencional com solventes orgânicos e a extração sob atmosfera reduzida (conhecida como extração supercrítica). Também foram estudadas as variáveis que podem influenciar a atividade antioxidante do composto extraído. Verificou-se a necessidade de controle rigoroso de fatores como, a polaridade do solvente, o tempo e a temperatura de extração. As pesquisas demonstraram que todos os métodos empregados apresentam fatores limitantes, devendo ser selecionado o mais adequado para o tipo de composto a ser extraído.

PALAVRAS-CHAVE: ANTIOXIDANTES; TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO, OXIDAÇÃO.

1 INTRODUÇÃO

A rancificação auto-oxidativa, uma das principais reações de deterioração dos alimentos, implica no aparecimento de sabores e odores anômalos (conhecidos como ranço). Essa reação de deterioração provoca redução no valor nutritivo do alimento, como consequência da perda de ácidos graxos essenciais, sendo alguns produtos resultantes da reação potencialmente tóxicos. A rancificação

* Mestranda em Engenharia e Ciência de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto-SP (e-mail: deniseandreo@ig.com.br).

** Professora, Doutora do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, IBILCE / UNESP, São José do Rio Preto-SP (e-mail: njorge@ibilce.unesp.br).

limita o tempo de conservação de muitos alimentos, já que pode ocorrer em conteúdo de gordura de apenas 1% (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os principais substratos da reação de oxidação lipídica são os ácidos graxos insaturados, pois as ligações duplas são centros ativos que podem reagir com o oxigênio. Os ácidos graxos insaturados oxidam-se mais facilmente quando estão livres e o grau de insaturação também influi na velocidade da reação (HAMILTON, 1994).

O efeito nocivo das reações de oxidação dos lipídios pode ser minimizado basicamente com refrigeração, acondicionamento e armazenamento adequados, embora a reação não seja detida por completo já que a auto-oxidação requer energia de ativação reduzida (HAMILTON, 1994).

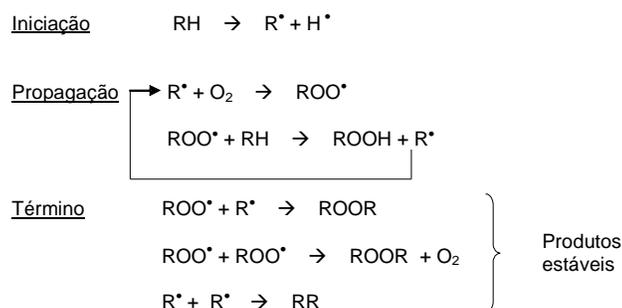
Segundo JADHAV et al. (1996), a oxidação dos lipídios está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre conforme as etapas ilustradas na Figura 1. Na etapa da iniciação ocorre a formação de radicais livres devido a retirada de um hidrogênio do carbono alílico da molécula do ácido graxo, na presença de luz e calor. Na propagação, os radicais livres (moléculas susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico) são convertidos em (outros radicais) produtos primários da oxidação lipídica (peróxidos e hidroperóxidos). Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando num processo autocatalítico. No término, os radicais combinam-se formando produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não-voláteis).

Os óleos, gorduras e alimentos gordurosos, normalmente são acrescidos de substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação do substrato quando submetidos a altas temperaturas e, eventualmente, prolongar a vida-de-prateleira de alimentos fritos (JASWIR, CHE-MAN e KITTS, 2000; RAMALHO e JORGE, 2006).

Os antioxidantes estão presentes de forma natural ou intencional nas gorduras e alimentos para retardar o aparecimento dos fenômenos de oxidação, mantendo intactas suas características sensoriais. Os antioxidantes que se adicionam aos alimentos não devem causar

efeitos fisiológicos negativos, produzir cores, odores nem sabores anômalos. Devem ser lipossolúveis, resistentes aos tratamentos a que seja submetido o alimento, ativos em baixas temperaturas e econômicos (ORDÓÑEZ et al., 2005).

FIGURA 1 - MECANISMO DE REAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA



RH = Ácido graxo insaturado; R^{\bullet} = Radical livre; ROO^{\bullet} = Radical peróxido; ROOH = Radical hidroperóxido.

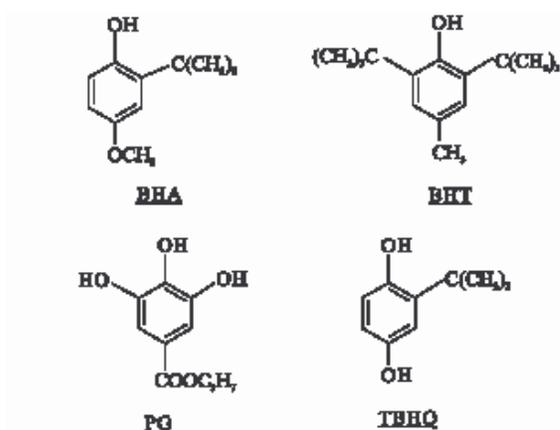
Fonte: RAMALHO e JORGE (2006).

GORDON (1990) classificou os antioxidantes em dois grupos, os primários e os secundários. Os antioxidantes primários são capazes de interromper a cadeia de radicais, cedendo hidrogênio a um radical lipídico livre e assumindo a forma de radical estável. Pode-se incluir nesse grupo os compostos fenólicos, que apresentam grupos doadores de elétrons nas posições orto e para de sua cadeia cíclica. Os secundários reduzem o processo de iniciação, utilizando agentes quelantes de metais como, por exemplo, o ácido etilenodiaminotetracético e o ácido cítrico.

A origem das substâncias antioxidantes pode ser sintética ou natural. Os antioxidantes sintéticos (Figura 2) como, o Butil-hidroxianisol (BHA), o Butil-hidroxitolueno (BHT), o Terc-butilhidroquinona (TBHQ) e o Propil Galato (PG) são utilizados para diminuir a fase de propagação da reação de oxidação. Entretanto, apresentam o inconveniente de serem voláteis e facilmente decompostos em altas temperaturas. Os riscos à saúde associados com o consumo crônico

dessas substâncias são preocupantes e continuam a ser estudados (MARTINEZ-TOME et al., 2001).

FIGURA 2 - ALGUNS ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS DE USO DE COMERCIAL



Fonte: HUI (1996).

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de vegetais e plantas. Muitas ervas e especiarias, utilizadas como condimentos em alguns pratos, são excelentes fontes de compostos fenólicos. Tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser usadas como conservantes naturais para alimentos (RICE-EVANS, MILLER e PAGANGA, 1996; ZHENG e WANG, 2001). Os compostos fenólicos exibem grande quantidade de propriedades fisiológicas (como antialérgica, antiarteriogênica, antiinflamatória, antimicrobiana, antitrombótica, cardioprotetiva e vasodilatadora), mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Existem diversos métodos para a extração dos compostos antioxidantes em vegetais, conhecidos também como substâncias bioativas. Dentre esses, podem ser citados os tradicionais métodos de extração utilizando solventes orgânicos (como água, etanol, éter e metanol) e a extração supercrítica que mediante mudanças

na pressão e na temperatura transforma o dióxido de carbono (CO₂) em fluido supercrítico para a extração (LEAL et al., 2003; REHMAN, HABIB e SHAH, 2004). Sob o ponto de vista químico não há como selecionar a metodologia mais eficiente para a extração desses compostos que podem sofrer a influência de diversos fatores. Dentre esses, podem ser citados a natureza do vegetal, o solvente empregado na extração, o tamanho das partículas, o tempo e a temperatura de extração (SHAIKI e NACZK, 1995).

O presente estudo apresenta levantamento de dados bibliográficos sobre os processos de extração de antioxidantes naturais e as variáveis que devem ser controladas para que a atividade dos compostos extraídos não seja afetada.

2 EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES NATURAIS

Para a identificação e isolamento de compostos bioativos em fontes naturais (como frutas, sementes e especiarias) é necessária a realização da extração com solventes de polaridades diferentes. As pesquisas enfocam essas extrações com o objetivo de comparar seus resultados e encontrar a melhor alternativa para sua aplicação em alimentos.

Algumas etapas preliminares devem ser realizadas para facilitar o processo de extração e conservar os compostos antioxidantes, que são sensíveis à ação da luz, oxigênio e calor (AZIZAH, RUSLAWATTI e TEE, 1998; VEKIARI, et al. 1993). Os vegetais normalmente são desidratados, liofilizados ou congelados, e ainda peneirados ou moídos antes do processo de extração. Assim, os substratos atingem maior superfície de contato com o solvente de extração e as enzimas lipoxigenase tornam-se inativas. Tais enzimas, naturalmente presentes em vegetais, são responsáveis pela rancidez oxidativa enzimática (JUNTACHOTE e BERGHOFER, 2005; GÁMEZ-MEZA et al., 1999).

2.1 EXTRAÇÃO COM SOLVENTES ORGÂNICOS

A extração com solventes orgânicos é freqüentemente utilizada para o isolamento dos compostos bioativos. O rendimento da extração e a

determinação da atividade antioxidante dos extratos dependem do tipo de solvente, devido às diferenças nos potenciais antioxidantes e à polaridade dos compostos (JULKUNEM-TIITO, 1985; MARINOVA e YANISHLIEVA, 1997).

2.1.1 Influência do solvente

Não existe sistema de extração com solventes que seja satisfatório para o isolamento de todos ou de classe específica de antioxidantes naturais, devido a diversos fatores. A natureza química desses compostos nos alimentos varia do simples ao altamente polarizado, há grande variedade de compostos bioativos nos vegetais (como os ácidos fenólicos, antocianinas e taninos) e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos antioxidantes com carboidratos, proteínas e outros componentes dos alimentos. Alguns desses complexos, assim como alguns fenólicos com alto peso molecular, são altamente insolúveis em água. Entretanto, os extratos sempre contêm mistura de substâncias fenólicas de diferentes classes que são solubilizadas no solvente do sistema escolhido. Estágios adicionais podem ser necessários para purificar o isolado e remover substâncias fenólicas e não-fenólicas indesejáveis (SHAIJI e NACZK, 1995).

Pesquisa realizada com folhas de “sambong” (*Blumea balsamífera*), mediante extração seqüencial com éter, clorofórmio e metanol possibilitou a determinação da atividade antioxidante seqüestradora de radical livre e a identificação de 11 tipos de flavonóides. O extrato de metanol apresentou a maior atividade antioxidante, seguida pelo extrato de clorofórmio e do extrato etéreo (NESSA et al., 2004).

AZIZAH, RUSLAWATTI e TEE (1999) estudaram a atividade antioxidante máxima de subprodutos de cacau (pó, grãos e cascas). Utilizaram metanol, misturas de clorofórmio, éter e dicloroetano ou clorofórmio, metanol e dicloroetano para a extração. O metanol apresentou melhor resultado na extração dos compostos antioxidantes. Para a extração em avelãs, MOURE et al. (2000) obtiveram melhores resultados usando solvente com maior polaridade para a extração de polifenóis.

Etanol e água são os solventes mais empregados para a extração de

antioxidantes por razões de higiene e de abundância, respectivamente.

Estudos comparativos para a seleção do solvente ótimo são necessários, pois a atividade dessas substâncias depende dos compostos polifenólicos, uma vez que a atividade antioxidante máxima é exigida para cada substrato (MOURE et al., 2001). Solventes com menor polaridade, como o acetato de etil, normalmente extraem compostos com maior atividade antioxidante que a mistura com etanol ou metanol, ou metanol sozinho para sementes de tamarindo. Já extratos de etanol e metanol apresentaram alta atividade inibidora da peroxidação lipídica, comparável com a do α -tocoferol (TSUDA et al., 1994).

ANAGNOSTOPOULOU et al. (2006) estudaram sete extratos de cascas de laranja doce. A fração na qual empregaram o solvente acetato de etil pode ser utilizada como eficiente antioxidante em alimentos e formulações medicinais, devido ao alto conteúdo de compostos fenólicos e atividade seqüestradora de radicais livres encontrados na amostra. Os extratos foram obtidos sucessivamente com tolueno, diclorometano e metanol de acordo com o aumento da polaridade do solvente. O extrato metanólico seco foi dissolvido em água aquecida e a solução particionada com éter dietil, acetato de etil e butanol. Nesse estudo, os extratos foram comparados com compostos de referência (Trolox, ácido ascórbico e quercetina) por apresentarem atividade antioxidante conhecida.

Frutos de “sorva” (*Sorbus domestica*) em diferentes estágios de maturação, cujos extratos foram obtidos com diclorometano, éter dietil e acetato de etil, revelaram atividade seqüestradora de radical livre maior que a do Trolox. Essa propriedade foi atribuída ao conteúdo total de fenólicos presente nos frutos. As amostras foram extraídas primeiramente com metanol e evaporadas, sendo os resíduos (após a pesagem) ressuspensos em água e depois particionados com os solventes correspondentes (TERMENTZI, KEFALAS e KOKKALOU, 2006).

Em folhas de “ginseng” (*Panax ginseng*), o extrato etanólico evidenciou maior ação seqüestradora de radical livre e atividade quelante de íons ferro. Além disso, continha maior quantidade de fenólicos (2.333,2 mg/100 g) e flavonóides (1.199,1mg/100 g) que os extratos aquoso e

metanólico em extração seqüencial com água, etanol e metanol, respectivamente (JUNG et al., 2006).

A água extrai com eficiência os compostos fenólicos com atividade antioxidante devido à sua polaridade. Em estudo realizado com cogumelos “Ling Chih” (*Ganoderma tsugae*), o extrato metanólico apresentou maior atividade antioxidante, porém baixa concentração de compostos fenólicos (24,0 a 35,5 mg/g) (MAU et al., 2005a). Já no extrato aquoso, a concentração de fenólicos obtida foi de 40,86 a 42,34 mg/g (MAU et al., 2005b).

2.1.2 Influência do tempo

O tempo de extração também afeta consideravelmente a recuperação dos polifenóis. O período de extração deve variar entre 1 minuto a 24 horas. No entanto, longos períodos de extração aumentam a possibilidade de oxidação dos fenólicos exigindo que agentes redutores sejam adicionados ao solvente do sistema (SHAIJI e NACZK, 1995).

Em estudo realizado com resíduos de frutas vermelhas, os extratos foram preparados com etanol, metanol e água e tempos de extração de 1, 12 e 24 horas. Comparando-se os resultados, o conteúdo de polifenóis diminuiu no extrato aquoso com maior tempo de extração, enquanto nos extratos metanólicos e etanólicos houve acréscimo no conteúdo de fenóis com o aumento do tempo (LAPORNIK, PROSEK e WONDRA, 2005).

2.1.3 Influência da temperatura

A estabilidade dos compostos polifenólicos, durante a desidratação e extração, é afetada por degradações químicas e enzimáticas e pela volatilização dos compostos, mas a decomposição térmica tem sido apontada como a maior causadora da redução do conteúdo de polifenóis. Na decomposição térmica, os fenóis podem reagir com outros componentes e impedir sua extração (MOURE et al., 2001).

A temperatura durante a extração pode afetar os compostos bioativos de diferentes maneiras. O conteúdo total de fenólicos diminui com aumento da temperatura (CONDE et al., 1998), assim como o conteúdo de proantocianidina nas mesmas condições (CADAHÍA

et al., 1998). A extração sob temperaturas brandas é desejável nos casos em que alguns compostos podem ser degradados como, por exemplo, o ácido carnósico presente nos extratos de alecrim. Por essa razão usa-se a extração com fluido supercrítico que preserva a ação antioxidante dos extratos (IBÁÑEZ et al., 1999).

Com o objetivo de otimizar a extração dos compostos antioxidantes da microalga *Spirulina platensis*, HERRERO et al. (2005b) utilizaram hexano, éter de petróleo, etanol e água para a extração, assim como temperaturas e tempos distintos. Altas temperaturas de extração apresentaram grande influência em todos os resultados, alterando os compostos com propriedades antioxidantes. Já a influência do tempo foi quase insignificante.

TOMAINO et al. (2005) estudaram a ação antioxidante de óleos essenciais de manjerição, canela, cravo-da-índia, noz-moscada, orégano e timo em diferentes condições de temperatura. Todos os óleos essenciais testados em temperatura ambiente apresentaram propriedade seqüestradora de radical livre, determinada pelo método espectrofotométrico baseado na redução do radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Sob aquecimento de 180°C, apenas a noz-moscada apresentou atividade antioxidante mais alta.

KIM et al. (2006) estudaram o efeito do aquecimento e das condições físicas de sementes de uva na atividade antioxidante dos extratos. Afirmaram que o aquecimento das sementes de uva favoreceu a liberação de compostos fenólicos e, portanto, aumentou a quantidade de compostos ativos em seus extratos.

2.2 EXTRAÇÃO SUPERCRTICA

A extração com solventes constitui método de separação conveniente, mas deve-se levar em consideração os efeitos tóxicos causados pelos resíduos. A extração com fluido supercrítico é considerada desejável, pois não libera resíduos tóxicos de solventes no ambiente (HUI, 1996).

A obtenção de compostos antioxidantes mediante extração com gases, como o dióxido de carbono, sob condições críticas de pressão e temperatura constitui método moderno e eficiente. Algumas substâncias, como o metanol e o etanol, podem ser utilizadas como

co-solventes, melhorando o rendimento e a seletividade dos extratos (POKORNY e KORCZAK, 2001).

O fluido submetido à pressão e temperatura acima de seu ponto crítico torna-se supercrítico. Várias propriedades dos fluidos são alteradas sob essas condições, tornando-se parecidas com as de alguns gases e líquidos. A densidade do fluido supercrítico é similar a dos líquidos, sua viscosidade assemelha-se a dos gases e sua capacidade de difusão é intermediária entre os dois estados. Portanto, o estado supercrítico de fluidos pode ser definido como o estado no qual líquido e gás são indistinguíveis entre si (HERRERO, CIFUENTES e IBANEZ, 2006).

Devido à sua baixa viscosidade e alta capacidade de difusão, os fluidos supercríticos apresentam propriedades de transporte melhores que os líquidos. Podem se difundir facilmente através de materiais sólidos, resultando em melhores rendimentos nas extrações. O dióxido de carbono (CO_2), o fluido mais utilizado devido a sua moderada temperatura ($31,3^\circ\text{C}$) e pressão crítica ($72,9 \text{ atm}$), é gasoso em temperatura ambiente. Entretanto, o CO_2 supercrítico (pela baixa polaridade) é menos efetivo para a extração de compostos com maior polaridade em fontes naturais. Tal fato é superado com a adição de modificadores, também conhecidos como co-solventes (DEL VALLE e AGUILLERA, 1999; RAVENTÓS, DUARTE e ALARCÓN, 2002).

As indústrias alimentícias, cosméticas e farmacêuticas, têm interesse pela extração supercrítica para a substituição dos processos de extração convencionais (como a extração com solventes orgânicos e a hidrodestilação) para obtenção de óleos essenciais e oleorresinas. A extração supercrítica produz extratos livres de resíduos e pode ser conduzida em baixas temperaturas, preservando a qualidade de compostos termo-sensíveis (ZANCAN et al., 2002).

O grande inconveniente da extração supercrítica reside na alta pressão necessária para a operação que requer equipamentos excessivamente caros, elevando o custo do produto final. Outras vantagens como, por exemplo, a alta pureza dos extratos e a grande eficiência do processo podem torná-la viável para aplicação em alimentos (HERRERO, CIFUENTES; IBANEZ, 2006).

LUENGTHANAPHOL et al. (2004) compararam o rendimento e a atividade antioxidante de extratos de sementes de tamarindo (*Tamarindus indica* L.) extraídos com CO₂ supercrítico, CO₂ supercrítico e co-solvente etanol 10% com os extratos etanólico e acetato de etil. Verificaram baixo rendimento na extração com fluido supercrítico, porém a adição do co-solvente melhorou significativamente a extração dos antioxidantes. Obtiveram extração mais efetiva utilizando etanol como solvente, na qual constataram menores valores no teste de peróxidos.

A extração de compostos antioxidantes em ervas e especiarias tem demonstrado maior eficiência quando submetidos à extração supercrítica com CO₂. O rendimento e a atividade antioxidante de extratos de alecrim demonstraram resultados mais satisfatórios nessas condições, quando comparados com extratos submetidos a hidrodestilação e extração com etanol e hexano (CARVALHO JUNIOR et al., 2005).

GRIGONIS et al. (2005) estudaram a ação antioxidante de extratos de erva-doce americana, mediante três tipos de extração. Na primeira utilizaram aparelho Soxhlet, na segunda microondas e na terceira dióxido de carbono supercrítico. Esse último foi considerado o método de extração mais eficiente com relação ao rendimento dos extratos e concentração de compostos bioativos, além dos aspectos ambientais.

Os extratos de folhas de boldo obtidos sob alta pressão com CO₂ supercrítico apresentaram menor atividade antioxidante que os extraídos com água quente pressurizada (110°C) e os obtidos em aparelho Soxhlet com metanol (VALLE et al., 2005). Extratos de Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) obtidos com CO₂ supercrítico apresentaram menor atividade seqüestradora de radical livre que os extratos etanólicos, porém evidenciaram maior atividade antioxidante que o alfa-tocoferol e o BHT (HU, HUH, XU, 2005).

3 CONCLUSÃO

O processo de extração de antioxidantes naturais constitui mecanismo complexo e envolve diversas técnicas, dentre as quais a extração convencional e a supercrítica. A extração de substâncias antioxidantes

com solventes orgânicos pode ser eficiente para alguns casos, porém torna-se agressiva ao ambiente devido aos resíduos gerados durante o uso de substâncias tóxicas. Também exige controle rigoroso de fatores como, a polaridade do solvente utilizado, o tempo e a temperatura de extração, pois podem ocorrer perda ou destruição dos compostos antioxidantes. A extração supercrítica oferece bom rendimento de extrato e preserva as propriedades antioxidantes, permitindo o controle da pressão e da temperatura. Por outro lado, o método torna-se ineficiente para substâncias com alta polaridade e seu alto custo dificulta a aplicação industrial. Portanto, estudos devem ser realizados com a finalidade de otimizar esses processos e reduzir seus custos, viabilizando-os como alternativa eficiente para o controle da oxidação lipídica em óleos, gorduras e alimentos gordurosos.

Abstract

NATURAL ANTIOXIDANTS: EXTRACTION TECHNIQUES

This paper presents a literature review that evidences the importance of the natural antioxidant substances, used as food preservatives, aiming the reduction of oxidative processes in foods containing oils or fats. The most usual methodologies were described in details in the obtention of natural antioxidants, including the conventional extraction with organic solvents, beyond the extraction under reduced atmosphere (also known as supercritical extraction). Also, the variables that have influence in the antioxidant activity of the extracted compound were studied. It was verified that the polarity of the solvent, the time and the temperature of the extraction need accurate control. The researches demonstrated that all the employed methods present limitant factors, having to be selected the most adjusted, in accordance with type of composition to be extracted.

KEY-WORDS: *ANTIOXIDANTS; EXTRACTION TECHNIQUES; OXIDATION.*

REFERÊNCIAS

- 1 ANAGNOSTOPOULOU, M. A. et al. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). **Food Chemistry**, London, v. 94, n. 1, p. 19-25, 2006.

- 2 AZIZAH, A. H.; RUSLAWATTI, N. M.; TEE, T. S. Extraction and characterization of antioxidant from cocoa by-products. **Food Chemistry**, London, v. 64, n. 2, p. 199-202, 1999.
- 3 BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, London, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.
- 4 CADAHÍA, E.; CONDE, E.; SIMÓN, B. F.; GARCIA-VALLEJO, M. C. Changes in tannic composition of reproduction cork *Quercus suber* throughout industrial processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 6, p. 2332-2336, 1998.
- 5 CARVALHO JR., R. N.; MOURA, L. S.; ROSA, P. T. V.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 35, n. 3, p. 197-204, 2005.
- 6 CONDE, E.; CADAHÍA, E.; GARCIA-VALLEJO, M. C.; SIMÓN, B. F. Polyphenolic composition of *Quercus suber* cork from different spanish provenances. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 46, n. 8, p. 3166-3171, 1998.
- 7 DEL VALLE, J. M.; AGUILLERA, J. M. Review: high pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. **Food Science and Technology International**, London, v. 5, p. 1-24, 1999.
- 8 GÁMEZ-MEZA, N. et al. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 76, n. 12, p. 1445-1447, 1999.
- 9 GORDON, M. H. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In: HUDSON, B. J. F. **Food antioxidants**. London: Elsevier

Applied Science, 1990. p. 1-18.

- 10 GRIGONIS, D. et al. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). **The Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 33, n. 3, p. 223-233, 2005.
- 11 HAMILTON, R. J. The chemistry of rancidity in foods. In: HAMILTON, R. J.; ALLEN, J. C. **Rancidity in foods**. 3th ed. London: Blackie Academic & Professional, 1994. p. 1-21.
- 12 HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBANEZ, E. Sub and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. **Food Chemistry**, London, v. 98, n. 1, p. 136-148, 2006.
- 13 HERRERO, M. et al. Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from *Spirulina platensis* microalga. **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 3, p. 417-423, 2005.
- 14 HUI, Y. H. **Bailey's industrial oil & fat products**. 5th ed. New York: John Willey & Sons, 1996. v. 3,
- 15 HU, Q.; HUH, Y.; XU, J. Free radical-scavenging activity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis Miller*) extracts by supercritical carbon dioxide extraction. **Food Chemistry**, London, v. 91, n. 1, p. 85-90, 2005.
- 16 IBÁÑEZ, E. et al. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 4, p. 1400-1404, 1999.
- 17 JADHAV, S. J.; NIMBALKAR, S. S.; KULKARNI, A. D.; MADHAVI, D. L. Lipid oxidation in biological and food systems. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. **Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 5-63.

- 18 JASWIR, I; CHE MAN, Y. B.; KITTS, D. D. Use of natural antioxidants in refined palm olein during repeated deep-fat frying. **Food Research International**, Barking, v. 33, n. 6, p. 501-508, 2000.
- 19 JULKUNEM-TIITO, R. Phenolic constituents in the leaves of northern willows, methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 33, n. 2, p. 213-217, 1985.
- 20 JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. **Food Chemistry**, London, v. 92, n. 2, p. 193-202, 2005.
- 21 JUNG, C. H. et al. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 36, n. 3, p. 266-274, 2006.
- 22 KIM, S. Y. et al. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grapes seed extracts. **Food Chemistry**, London, v. 97, n. 3, p. 472-479, 2006.
- 23 LAPORNIK, B.; PROSEK, M.; WONDRA, A. G. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 71, n. 2, p. 214-222, 2005.
- 24 LEAL, P. F. et al. Functional properties of spices extracts obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 9, p. 2520-2525, 2003.
- 25 LUENGTHANAPHOL, S. et al. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat- preliminary experiments. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 63, n. 3, p. 247-253, 2004.
- 26 MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. I. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. **Food Chemistry**, London, v. 58, n. 3, p. 245-

248, 1997.

- 27 MARTINEZ-TOME, M. et al. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 9, p. 1412-1419, 2001.
- 28 MAU, J. L.; TSAI, S. Y.; TSENG, Y. H.; HUANG, S. J. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. **Food Chemistry**, London, v. 93, n. 4, p. 641-649, 2005a.
- 29 MAU, J. L.; TSAI, S. Y.; TSENG, Y. H.; HUANG, S. J. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 38, n. 6, p. 589-597, 2005b.
- 30 MOURE, A. et al. Evaluation of extracts from *Gevuina avellana hulls* as antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 9, p. 3890-3897, 2000.
- 31 MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, London, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.
- 32 NESSA, F.; ISMAIL, Z.; MOHAMED; N.; HARIS, M.R.H.M. Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC leaves. **Food Chemistry**, London, v. 88, n. 2, p. 243-252, 2004.
- 33 ORDÓÑEZ , J. A. et al. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 33-49.
- 34 POKORNY, J.; KORCZAK, J. Preparation of Natural antioxidants. In: POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical applications**. New York: CRC Press, 2001. p. 311-330.
- 35 RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos , gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**,

São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

- 36 RAVENTÓS, M.; DUARTE, S.; ALARCÓN, R. Application and possibilities of supercritical CO₂ extraction in food processing industry: an overview. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n. 5, p. 269-284, 2002.
- 37 REHMAN, Z.; HABIB, F.; SHAH, W. H. Utilization of potato peels extract as a natural antioxidant in soy bean oil. **Food Chemistry**, London, v. 85, n. 2, p. 215-220, 2004.
- 38 RICE-EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.
- 39 SHAIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics**: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. p. 281-319.
- 40 TERMENTZI, A.; KEFALAS, P.; KOKKALOU, E. Antioxidant activities of various extracts and fractions of *Sorbus domestica* fruits at different maturity stages. **Food Chemistry**, London, v. 98, n. 4, p. 599-608, 2006.
- 41 TOMAINO, A. et al. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, London, v.89, n. 4, p. 549-554, 2005.
- 42 TSUDA, T. et al. Antioxidants pigments isolated from the seed of tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 42, n. 12, p. 2671-2674, 1994.
- 43 VALLE, J. M.; ROGALINSKI, T.; ZETZL, C.; BRUNNER, G. Extraction of boldo (*Peumus boldus* M.) leaves with supercritical CO₂ and hot pressurized water. **Food Research International**, Barking, v. 38, n. 2, p. 203-213 , 2005.
- 44 VEKIARI, S. A.; OREOPOULOU, V.; TZIA, C.; THOMOPOULOS, C. D. Oregano flavonoids as lipid

antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 70, n. 5, p. 483-487, 1993.

- 45 ZANCAN, K. C.; MARQUES, M. O. M.; PETENATE, A. J.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, New York, v. 24, n. 1, p. 57-76, 2002.
- 46 ZHENG, W.; WANG, S. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 11, p. 5165-5170, 2001.