

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 22/04/2023.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO" – UNESP
INSTITUTO DE QUÍMICA – CÂMPUS DE ARARAQUARA**

Maiara Stefanini Borges Caires

**Abordagem verde e multivariada no desenvolvimento de um
método sustentável para monitoramento da
composição química da soja e determinação quantitativa dos
parâmetros de combustão do extrato e de sua biomassa
residual por TG/ DTG-DSC**

Araraquara-SP

2021

MAIARA STEFANINI BORGES CAIRES

Abordagem verde e multivariada no desenvolvimento de um método sustentável para monitoramento da composição química da soja e determinação quantitativa dos parâmetros de combustão do extrato e de sua biomassa residual por TG/ DTG-DSC

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Rinaldo
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marina Piacenti da Silva

Araraquara-SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

C136a Caires, Maiara Stefanini Borges
Abordagem verde e multivariada no desenvolvimento de um método sustentável para monitoramento da composição química da soja e determinação quantitativa dos parâmetros de combustão do extrato e de sua biomassa residual por TG/DTG-DSC / Maiara Stefanini Borges Caires. – Araraquara-SP : [s.n.], 2021
128 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Daniel Rinaldo
Coorientador: Marina Piacenti da Silva

1. Plantas medicinais. 2. Planejamento experimental. 3. Química verde. 4. Sustentabilidade. 5. Análise térmica. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Abordagem verde e multivariada no desenvolvimento de um método sustentável para monitoramento da composição química da soja e determinação quantitativa dos parâmetros de combustão do extrato e de sua biomassa residual por TG/ DTG-DSC.

AUTORA: MAIARA STEFANINI BORGES CAIRES

ORIENTADOR: DANIEL RINALDO

COORIENTADORA: MARINA PIACENTI DA SILVA

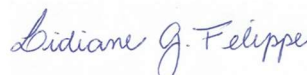
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. DANIEL RINALDO (Participação Virtual)
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru



Prof. Dr. JOSÉ AUGUSTO TEIXEIRA (Participação Virtual)
Núcleo de Base Nacional Comum/ Química / Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná - IFPR - Paranavaí



Profa. Dra. LIDIANE GASPARETO FELIPPE (Participação Virtual) Departamento de Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof.^a Dr.^a LOURDES CAMPANER DOS SANTOS (Participação Virtual)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. TIAGO ANDRÉ DENCK COLMAN (Participação Virtual)
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas / Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD - Dourados

Araraquara, 22 de abril de 2021

DADOS CURRICULARES

Dados Pessoais

Nome: Maiara Stefanini Borges Caires

Filiação: Iracidio Stefanini Borges e Silvia Regina de Oliveira Stefanini Borges

Nascimento: 26/12/1985 – Araraquara/SP-Brasil.

Endereço Profissional

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências de Bauru.
Avenida Engenheiro Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01 Vargem Limpa
17033360 - Bauru, SP - Brasil

Endereço eletrônico: borges.maiara26@gmail.com

Atuação Profissional

Professor de Educação Básica- PEB II

DE Bauru- Secretária da Educação do Estado de São Paulo

FORMAÇÃO ACADÊMICA

2016 – 2020

Doutorado em Química

Doutorado: Química, Área de Concentração - Química Orgânica

Instituição: Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” - UNESP- Instituto de Química de Araraquara- SP.

Tese: Abordagem verde e multivariada no desenvolvimento de um método sustentável para monitoramento da composição química da soja e determinação quantitativa dos parâmetros de combustão do extrato e de sua biomassa residual por TG/ DTG-DSC

Orientador: Prof. Dr. Daniel Rinaldo

Bolsa CAPES

2014-2016

Mestrado em Química

Mestrado: Química, Área de Concentração - Química Orgânica

Instituição: Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” - UNESP- Instituto de Química de Araraquara- SP.

Dissertação: Bioprospecção de ciclohexanóis oxigenados em *Saccharicola* sp. um fungo endofítico de *Eugenia jambolana*

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Angela Regina Araujo / Bolsa: CAPES

2009-2013

Graduação em Licenciatura em Química

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Araraquara-SP.

FORMAÇÃO ACADÊMICA COMPLEMENTAR

Iniciação Científica

2012 – 2013

Bolsista FAPESP Projeto: Estudo da cinética de oxidação de sulfeto e tiosulfato por micro-organismos isolados de lodo anaeróbico e diferentes linhagens de *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans*. Iniciação Científica, Carga horária: 12, Regime: Dedicção exclusiva, no período de 2012 até 31 de agosto de 2013.

2009 – 2012

Bolsista CNPq - PIBIT Projeto: Fitoterápicos padronizados para o tratamento de doenças crônicas - *Astronium urundeuva*. Iniciação Científica, Carga horária: 12, Regime: Dedicção exclusiva, no período de 2009 até 31 de agosto de 2012.

2009

Bolsista Estágio Técnico, Enquadramento Funcional: Estágio de treinamento técnico na disciplina Biologia Molecular. Realizado no laboratório de Biologia Molecular e Celular de Microrganismos na Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Campus Araraquara. No período de 23 de março de 2009 a 31 de agosto de 2009 num total de 400 horas.

2015 – 2018

Estágio Docência

Estágio docência: Disciplina – Instrumentação para ensino de Química- turma 5º ano do curso de Licenciatura em Química. Realizado no 1º Semestre de 2018– Instituto de Química - Unesp/Araraquara.

Estágio Supervisionado em Docência: Disciplina- Química I. Turma 1º ano do Curso de

Biologia. Realizado no 2º Semestre de 2017 – na Faculdade de Ciências- Unesp na Cidade de Bauru- SP. 60 horas

Estágio Docência: Disciplina - Química I- Turma Engenharia Química. Realizado no período de 02/03/2015 a 04/07/2015 - no Instituto de Química de Araraquara-SP.

2019-2020

Supervisão Científica

Aluna: Maria Eduarda de Oliveira (Iniciação Científica). Título do projeto Desenvolvimento de métodos analíticos visando atender aos princípios da química verde para identificação dos princípios ativos de *Bauhinia forficata* Link por HPLC-PDA aplicando ferramentas quimiométricas - Faculdade de Ciências - UNESP Bauru. Bolsista: CNPQ.

ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

1. PELISSARI, JOÃO HENRIQUE; BRAGAGNOLO, FELIPE SANCHEZ; PEREIRA, FABÍOLA MANHAS VERBI; BORGES, MAIARA STEFANINI; DE FUNARI, CRISTIANO SOLEO; RINALDO, DANIEL. Green and Multivariate Approach to Obtain a Fingerprint of Red Wines by HPLC-PAD. Food Analytical Methods, v. 2021, p. 1-12, 2021.

2. BORGES, MAIARA S.; ZANATTA, ANA C. ; SOUZA, OTÁVIO A. ; PELISSARI, JOÃO H. CAMARGO, JÚLIO G.S. ; CARNEIRO, RENATO L. ; FUNARI, CRISTIANO S.; BOLZANI, VANDERLAN S. ; RINALDO, DANIEL. A green and sustainable method for monitoring the chemical composition of soybean: an alternative for quality control. Phytochemical Analysis, v. X, p. 1-13, 2020.

3. CARNEIRO, ARIADNE MAGALHÃES; MOREIRA, EDUARDA ANTUNES; BRAGAGNOLO, FELIPE SANCHEZ; BORGES, MAIARA STEFANINI; PILON, ALAN CESAR; RINALDO, DANIEL; FUNARI, CRISTIANO SOLEO. Soya agricultural waste as a rich source of isoflavones. FOOD RESEARCH INTERNATIONAL, v. 130, p. 108949, 2020.

ARTIGOS EM ANDAMENTO

BORGES, M.S; EKAWA, B.; NUNES, W. D.G; CAIRES, F.J.; RINALDO, D. Quantitative evaluation of the combustion parameters of three medicinal plants and their residual biomass by TG-DSC.

CAPÍTULOS DE LIVROS PUBLICADOS

MATEUS, PAOLA G.; WOLF, VANESSA G.; BORGES, MAIARA S.; XIMENES, VALDECIR F. Quercetin: Prooxidant Effect and Apoptosis in Cancer. *Studies in Natural Products Chemistry*. 58ed.: Elsevier, 2018, v., p. 265-288.

APRESENTAÇÕES DE TRABALHOS

1. SILVA, A. C; BORGES, M. S.; RINALDO, D.; VILEGAS, W. HPLC-PDA green chromatographic method for the standardization of *Serjania marginata* extracts. In: 27th Congress of the Italo-latinamerican Asian & African Society of Ethnomedicine (SILAE), 2018, milazzo, sicily. 27th Congress of the Italo-latinamerican Asian & African Society of Ethnomedicine (SILAE), 2018.
2. CARNEIRO, A. M.; BORGES, M. S.; PILON, A.; RINALDO, D.; FUNARI, C. S. Ocorrência de isoflavonas em resíduos da cultura de soja. In: XIII Workshop de Plantas Mediciniais de Botucatu: Em busca de produtos naturais bioativos, 2018, Botucatu-SP. XIII Workshop de Plantas Mediciniais de Botucatu: Em busca de produtos naturais bioativos, 2018.
3. SOUZA, O. A.; BORGES, M. S.; FUNARI, C. S.; CARNEIRO, R. L.; RINALDO, D. Green extraction and chromatographic fingerprint optimization towards the CLAE-PAD analysis of *Cynara scolymus* L. by means of a multivariate approach. In: The 70th Southeastern Regional Meeting of the American Chemical Society - SERMACS, 2018, Augusta, GA. SERMACS, 2018.
4. BORGES, M. S.; SILVA, L. H. M. G.; CARNEIRO, R. L.; FUNARI, C. S.; RINALDO, D. Important chromatographic parameters for obtain the green chromatographic *fingerprinting* of pomegranate by HPLC-PAD. In: 6nd Brazilian Conference on Natural

Products (6nd BCNP)., 2017, Vitória-ES. 6nd Brazilian Conference on Natural Products (6nd BCNP), 2017.

5. CAMARGO, J. G. S.; BORGES, M. S.; CARNEIRO, R. L.; FUNARI, C. S.; RINALDO, D. Quality by design determination of chromatographic parameters for separation of secondary metabolites of *Glycine max* Merr (L.) ('soybean') by HPLC-PAD using the concepts of green chemistry. In: 6nd Brazilian Conference on Natural Products 6nd BCNP), 2017, Vitória-ES. 6nd Brazilian Conference on Natural Products 6nd BCNP), 2017.

6. BORGES, M. S.; CHAPLA, V. M.; BOLZANI, V. S.; ARAUJO, A. R.; YOUNG, M. C. Prospecting secondary metabolites in *Saccharicola* sp. an endophytic fungus from *Eugenia jambolana*. In: 5nd Brazilian Conference on Natural Products (5nd BCNP), 2015, Atibaia, SP. 5nd Brazilian Conference on Natural Products (5nd BCNP), 2015.

7. BORGES, M. S.; SOLCIA, R. B.; BEVILAQUA, D. Thiosulphate oxidation by strains of *Acidithiobacillusferrooxidans* and *Acidithiobacillusthiooxidans*. In: 20th International Biohydrometallurgy Symposium, 2013, Antofagasta-CL. Proceedings of 20th International Biohydrometallurgy Symposium, 2013.

8. BORGES, M. S.; BRAHIM, G. T.; SOUZA, L. P.; SILVA, V. C.; VILEGAS, W. Isolamento e identificação de substâncias polares das folhas de *Astronium graveolens* (Anacardiaceae). In: 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química., 2011, Florianópolis. 34a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Ano Internacional da Química- Química para um mundo melhor, 2011.

9. SOUZA, L. P.; BORGES, M. S.; SILVA, V. C.; VILEGAS, W. Validation of HPLC-DAD Method for the Determination of Phenolic Compounds in *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). In: 3rd Brazilian Conference on Natural Products (3rd BCNP)., 2011, Ouro Preto. the XXIX Annual Meeting on Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology (XXIX RESEM), 2011.

10. BORGES, M. S.; SOUZA, L. P.; SILVA, V. C.; VILEGAS, W. Fitoterápicos padronizados para o Tratamento de Doenças Crônicas: *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). In: XIX Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM, 2011, Ciudad del Este- Paraguay. XIX Jornadas de Jóvenes Investigadores AUGM- Ciencia en el Bicentenario de los pueblos latinoamericanos, 2011.

11. BORGES, M. S.; SILVA, V. C.; VILEGAS, W. Taninos condensados de *Astronium fraxinifolium*. In: Jornada Farmacêutica da UNESP, 2010, Araraquara-SP. 57 Jornada Farmacêutica da UNESP, 2010.

12. SILVA, A.C; BORGES, M. S.; NASSER, A.L.M.; VILEGAS, W. Isolamento e identificação de flavonóides em Pouteria torta. In: Congresso de Iniciação Científica-CIC, 2009, São Jose do Rio Preto. (Apresentação de Trabalho/Congresso), 2009.

PARTICIPAÇÃO EM BANCAS DE TRABALHOS DE CONCLUSÃO

1. XIMENES, F. V.; BORGES, S. M.; BANNACH, G. Participação em banca de Vinícius Ribeiro Santana. Síntese de Análise do Dímero da Apocinina: Diapocininal. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura Em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

2. RINALDO, D; BORGES, S. M.; SANTOS, G. C; Participação em banca de Vanessa Svizzero Fakhoury. Desenvolvimento de metodologias verdes para análises do perfil químico das folhas de espécies do gênero *Davilla* por cromatografia líquida de alta eficiência. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura Em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

3. RINALDO, D.; BORGES, S. M.; SANTOS, G. C. Participação em banca de João Henrique Pelissari. Alternativa verde para análise de *Phyllanthus niruri*. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura Em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

4. RINALDO, D.; BORGES, S. M.; SILVA, B. H. S. T. Participação em banca de Júlio Gabriel Sanches de Camargo. Desenvolvimento de método de preparo de amostra e determinação de variáveis com efeitos importantes na separação de metabólitos secundários de *Glycine max* (“soja”) por CLAE-DAD, utilizando conceitos de química verde. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura Em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

5. RINALDO, D; BORGES, S. M.; FERREIRA, L. T. Participação em banca de Otávio Aguiar de Souza. Desenvolvimento do Método Analítico para *Fingerprinting* Metabólico das Folhas de Alcachofra por CLAE-DAD com Aplicação dos Princípios da Química Analítica Verde”. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura Em Química) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

6. RINALDO, D; BORGES, S. M.; CAIRES, F. J. Participação em banca de Aline Fabíola Baratelli. Estágio em Indústria, realizado na empresa “Santisa Laboratório Farmacêutico”. Integrando a Sessão Pública de Defesas de Trabalhos de Conclusão de Curso dos cursos de Licenciatura em Química e Bacharelado em Química Ambiental Tecnológica no ano letivo

de 2017. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

7. FERNANDES, J. R.; BORGES, S. M.; RISSATO, S. R. Participação em banca de Bárbara Luizetto Gonçalves Bueno. Estágio em Indústria, realizado na empresa “Departamento de Água e Esgoto de Bauru”. Integrando a Sessão Pública de Defesas de Trabalhos de Conclusão de Curso dos cursos de Licenciatura em Química e Bacharelado em Química Ambiental Tecnológica no ano letivo de 2017. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

8. XIMENES, F. V.; BORGES, S. M.; LEGENDRE, O.A. Participação em banca de Maria Eduarda de Oliveira. Estágio em Indústria, realizado na empresa “Zilor Energia e Alimentos”. Integrando a Sessão Pública de Defesas de Trabalhos de Conclusão de Curso dos cursos de Licenciatura em Química e Bacharelado em Química Ambiental Tecnológica no ano letivo de 2020. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS, CONGRESSOS, EXPOSIÇÕES E FEIRAS

1. First Brazilian Workshop on Bioinformatics/Chemometrics for Metabolomics. First Brazilian Workshop on Bioinformatics/Chemometrics for Metabolomics. 2015. (Encontro).

2. 1st UNESP NMR Symposium. Recent Advances in NMR Spectroscopy: A Powerful Tool for Fundamental and Applied Research. 2014. (Simpósio).

3. 57º Jornada Farmacêutica da UNESP. Taninos condensados de *Astronium fraxinifolium*. 2010. (Congresso).

4. XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP (1ª etapa). Determinação do perfil químico do extrato aquoso das folhas de *Astronium graveolens* (Anacardiaceae). 2010. (Congresso).

5. VII Evento de Educação em Química. Materiais Didáticos: Suas Aplicações. 2009. (Outra).

ORGANIZAÇÕES DE EVENTOS

Participação da comissão organizadora da XXXIX Semana da Química, tema: “Tendências e Aplicações de uma Ciência Multifacetada.” no período de 19 a 23 de outubro de 2009, no Instituto de Química, Campus de Araraquara-SP.

Participação da comissão organizadora do VIII Evento de Educação em Química, tema: “Os Instrumentos de Avaliação no Ensino de Química”, no período de 25 a 27 de agosto de 2010, no Instituto de Química, Campus de Araraquara-SP.

Participação da comissão organizadora do IX Evento de Educação em Química; tema: “Linguagem no Ensino de Química”, no período de 31 de agosto a 02 de setembro de 2011, no Instituto de Química, Campus de Araraquara-SP.

Participação da comissão organizadora do X Evento de Educação em Química; tema: “Química como ferramenta interdisciplinar” a ser realizado no dia 29 a 31 de agosto de 2012, no Instituto de Química, Campus de Araraquara-SP.

*Aos meus queridos pais, Iracidio e Silvia, irmão Mateus e avó Maria
Luisa*

*Seus exemplos de honestidade, respeito, solidariedade, perseverança e amor que
servem de guia para a minha vida. Se hoje escrevo esta Tese de Doutorado, é que em
todos os momentos da minha vida, recebi o apoio e o incentivo para que me tornasse
uma
pessoa com qualidades e habilidades tanto profissional quanto pessoal.*

Ao meu querido marido Flávio.

*Pelo amor, incentivo, companheirismo e paciência. Obrigada pelo imenso apoio
durante a execução desse trabalho, e por estar sempre presente nos momentos bons e
ruins
da minha vida. Obrigada por tudo.*

A minha querida Filha Giovanna.

*A minha pequena Gigi, minha filha, por me dar o incentivo de ser sempre melhor. Você é
o apoio que me sustenta todos os dias. Os filhos são os que nos dão força para continuar,
não importa como. Que você tenha orgulho da sua mãe e se inspire a ser sempre
resiliente e determinada*

AGRADECIMENTOS

Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades. Principalmente em tempos de pandemia no qual nos encontramos neste momento.

Aos meus pais, pelo amor, apoio, paciência, sacrifício e inúmeras renúncias que vocês tiveram que fazer para me proporcionar uma educação melhor e de qualidade. Mais do que a educação formal que vocês me ofereceram e que sempre se esforçaram para que fosse a melhor, a formação humana foi o que de mais importante vocês fizeram por mim. Eu só posso retribuir tentando ser o melhor filha que pais como vocês merecem ter. Sou e serei eternamente grata por tudo que dedicaram a mim. Eu tenho muito orgulho de ser filha de vocês e muita admiração pelos pais que tenho.

A minha falecida avó que não estará presente nesse dia importante da minha vida. Mas que em espírito estará como sempre torcendo pelas minhas conquistas.

Ao meu marido Flávio, pelo amor, carinho, incentivo, companheirismo e paciência em todos os momentos.

A minha pequena Gigi, minha filha, por me dar o incentivo de ser sempre melhor. Pelos momentos de pura alegria e amor.

Ao meu orientador Prof. Dr. Daniel Rinaldo pela paciência, pela amizade, pelas conversas e ensinamentos. Obrigada pela oportunidade em participar do grupo de Química verde (GreenBiotech Network).

A minha co-orientadora Profa. Dra. Marina Piacentini e a aluna Marcela pelas conversas, amizade e ensinamentos.

A Ana C. Zanatta, Otávio Aguiar, Laura Helena Miranda Gomide Silva, Maria Eduarda Oliveira, Prof. Dr. Cristiano Funari, Bruno Ekawa, por toda ajuda na execução do trabalho e colaboração nos artigos científicos. Serei eternamente grata.

Aos alunos do grupo LSOP e LATIG pela amizade, ajuda e momentos de descontração.

Aos amigos da Faculdade e da vida em especial minhas amigas: Aninha, Natalia e Leonice pela amizade, pelo apoio e pelas inúmeras conversas e risadas durante esta trajetória. Admiro vocês. Queria estar sempre perto de vocês.

Ao Prof. Valdecir Farias Ximenes por permitir a utilização do instrumento HPLC-PDA e pelos ensinamentos.

A todos os funcionários do Instituto de Química de Araraquara e Faculdade de Ciências de Bauru em especial a Wennia (secretária da pós graduação do IQ) e o Wagner (secretário do departamento de química-Fc/Bauru), por toda ajuda.

A CAPES pelas bolsas concedidas e a FAPESP pelos financiamentos.

*“Por vezes, sentimos que aquilo que fazemos não é, senão, uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

Madre Teresa de Calcutá

*Uma das lições com as quais eu cresci foi a de sempre permanecer verdadeiro consigo
mesmo e nunca deixar que as palavras de alguém distraia você dos seus objetivos.*

Michelle Obama

*Tudo que você precisa fazer é mover as pessoas só um pouquinho para mudanças
acontecerem. Não precisa ser algo enorme.*

Viola Davis

*“A grandeza da vida não consiste em não cair nunca, mas em nos levantarmos cada vez
que caímos”.*

Nelson Mandela

*A mudança não chegará se esperamos outra pessoa ou outro tempo. Somos nós mesmos
os que estávamos esperando. Somos a mudança que buscamos”*

Barack Obama

RESUMO

A soja, *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae), é uma das culturas mais importantes do mundo, por ser responsável pela produção de biodiesel, leite, tofu e etanol, fonte de óleo, proteína e principalmente de metabólitos secundários como as isoflavonas, que desempenham um papel importante na prevenção de doenças crônicas. A análise quimiométrica de dados multivariados associados à cromatografia líquida de alta eficiência é cada vez mais usado para desenvolver métodos de eluição abrangentes para o controle de qualidade de plantas como a soja. Este trabalho visou estabelecer um método de análise não poluente, seguro e sustentável para análise de sementes de soja. Um planejamento fatorial fracionário foi desenvolvido para o extrato hidroetanólico 70% de *G. max* para o desenvolvimento de um método cromatográfico verde, sendo que as variáveis determinadas como mais significativas foram % inicial de etanol na fase móvel e temperatura da análise em °C. Para as variáveis mais significativas, foi utilizado o modelo robusto chamado Doehlert para a otimização dos níveis e resposta do método cromatográfico. Sendo facilmente aplicado para otimizar variáveis exigindo menos experimentos, além desta metodologia ser mais ecologicamente correta devido à menor geração de resíduos químicos. Fornecendo uma condição ótima para se obter o *fingerprinting* das sementes de soja. As condições cromatográficas do método otimizado foram: coluna C18 XSelect (150 x 4.6 mm d.i.; 5 µm), com pré-coluna (4 x 3 mm, 5 µm), equipamento HPLC (Jasco®), Fase móvel: H₂O + 0,5% de ácido acético (A) e EtOH (B) no seguinte gradiente: 5-55% de B em 30 min. Vazão: 1 mL min⁻¹. Temperatura de análise: 35 °C; volume de injeção: 20 µL, comprimento de onda 260 nm. O impacto ambiental do método desenvolvido para análise de isoflavonas de soja em comparação a métodos de referência foi avaliado pelas métricas *HPLC-Environmental Assessment Tool* e *AGREE- Analytical GREnEss Calculator* demonstrando que a metodologia desenvolvida é mais ambientalmente amigável e está de acordo com os princípios de química verde. A boa seletividade do método permitiu identificar por cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas, as principais isoflavonas presentes e provou ser aplicável no controle de qualidade desses metabólitos interessantes, sendo uma alternativa viável na autenticação de seis amostras comerciais de soja de diferentes localidades. Não gerando resíduos tóxicos e sendo seguro para o analista, além de ser um método de custo reduzido. Outro viés pouco explorado é o comportamento térmico de extratos vegetais e biomassa residual de plantas medicinais e aromáticas. A Análise térmica permitiu determinar quantitativamente as características da decomposição térmica e termo-oxidativa e além de determinar os parâmetros de combustão para soja, extrato e sua biomassa residual. O efeito da extração sobre os parâmetros de combustão da biomassa residual e a estabilidade térmica dessa amostra foram afetados pela extração. Portanto esse trabalho mostra a aplicabilidade na utilização da cromatografia líquida de alta eficiência associada a abordagem multivariada, na obtenção de um método robusto, eficiente, de acordo com os princípios de química verde e ambientalmente amigável na análise de soja. Como também nessa perspectiva explorou a utilização da biomassa residual e sua aplicabilidade no setor de bioenergia.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Planejamento experimental. Química verde. Sustentabilidade. Análise térmica.

ABSTRACT

Soybean, *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae), is one of the most important crops in the world, as it is responsible for the production of biodiesel, milk, tofu and ethanol, a source of oil, protein and mainly of secondary metabolites such as isoflavones, which play an important role in the prevention of diseases chronic. The chemometric analysis of multivariate data associated with high-performance liquid chromatography is increasingly used to develop comprehensive elution methods for the quality control of plants such as soybeans. This work aimed to establish a non-polluting, safe and sustainable analysis method for analyzing soybean seeds. A fractional factorial design was developed for the hydroethanolic extract 70% of *G. max* for the development of a green chromatographic method, and the variables determined as the most significant were the initial % of ethanol in the mobile phase and the temperature of the analysis in ° C. For the most significant variables, the robust model called Doehlert was used to optimize the levels and response of the chromatographic method. Being easily applied to optimize variables requiring less experiments, in addition to this methodology being more environmentally friendly due to the lower generation of chemical residues. Providing an optimal condition for obtaining the fingerprinting of soybean seeds. The chromatographic conditions of the optimized method were: C18 XSelect column (150 x 4.6 mm di; 5 µm), with pre-column (4 x 3 mm, 5µm), HPLC equipment (Jasco®), Mobile phase: H₂O + 0.5 % acetic acid (A) and EtOH (B) in the following gradient: 5-55% B in 30 min. Flow rate: 1 mL min⁻¹. Analysis temperature: 35 °C; injection volume: 20 µL, wavelength 260 nm. The environmental impact of the method developed for the analysis of soy isoflavones in comparison to reference methods was evaluated by the metrics HPLC-Environmental Assessment Tool and AGREE-Analytical GREEnEss Calculator demonstrating that the methodology developed is more environmentally friendly and is in accordance with the principles of green chemistry. The good selectivity of the method allowed to identify by HPLC and mass spectrometry, the main isoflavones present and proved to be applicable in the quality control of these interesting metabolites, being a viable alternative in the authentication of six commercial samples of soy from different locations. It does not generate toxic waste and is safe for the analyst, in addition to being a low cost method. Another little explored bias is the thermal behavior of plant extracts and residual biomass of medicinal and aromatic plants. The thermal analysis allowed to determine quantitatively the characteristics of the thermal and thermo-oxidative decomposition and in addition to determining the combustion parameters for soybean, extract and its residual biomass. The effect of the extraction on the combustion parameters of the residual biomass and the thermal stability of this sample were affected by the extraction. Therefore, this work shows the applicability in the use of high performance liquid chromatography associated with the multivariate approach, in obtaining a robust, efficient method, according to the principles of green and environmentally friendly chemistry in soybean analysis. In this perspective, he also explored the use of residual biomass and its applicability in the bioenergy sector.

Keywords: Medicinal plants. Experimental planning. Green chemistry. Sustainability. Thermal analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Número de artigos publicados por cientistas brasileiros sobre plantas nos últimos 33 anos.....	26
Figura 2 - Sojas comerciais e Estruturas das isoflavonas agliconas e glucosídicas presentes nas sementes de soja.....	29
Figura 3 - Etapas de extração em fase sólida com cartuchos de fase reversa.....	44
Figura 4 - Cromatogramas referentes às etapas de pré-tratamento do extrato hidroetanólico 70% de <i>G. max.</i> metodologia 1. Eluição 1: EtOH/H ₂ O (1:9, v/v). Sistema de eluição gradiente: 5-100% EtOH em 60 min, coluna C18 XBridge (150 x 4.6 mm d.i.; 5 μm), com pré-coluna (4 x 3 mm, 5μm), HPLC (Jasco®), vazão 1,0 mL min ⁻¹ , λ = 260 nm.....	54
Figura 5. Cromatogramas referentes às etapas de pré-tratamento do extrato hidroetanólico 70% de <i>G. max.</i> metodologia 1. Eluição 2: EtOH/H ₂ O (1:1, v/v). Sistema de eluição gradiente: 5-100% EtOH em 60 min, coluna C18 XBridge (150 x 4.6 mm d.i.; 5 μm), com pré-coluna (4 x 3 mm, 5μm), HPLC (Jasco®), vazão 1,0 mL min ⁻¹ , λ = 260 nm.....	55
Figura 6. Cromatogramas referentes às etapas de pré-tratamento do extrato hidroetanólico 70% de <i>G. max.</i> metodologia 1. Eluição 3: 100% EtOH. Sistema de eluição gradiente: 5-100% EtOH em 60 min, coluna C18 XBridge (150 x 4.6 mm d.i.; 5 μm), com pré-coluna (4 x 3 mm, 5μm), HPLC (Jasco®), vazão 1,0 mL min ⁻¹ , λ = 260 nm.....	55
Figura 7. Cromatogramas referentes às etapas de pré-tratamento do extrato hidroetanólico 70% de <i>G. max.</i> metodologia 2. EtOH/H ₂ O (7:3, v/v). Sistema de eluição gradiente: 5-100% EtOH em 60 min, coluna C18 XBridge (150 x 4.6 mm d.i.; 5 μm), com pré-coluna (4 x 3 mm, 5μm), HPLC (Jasco®), vazão 1,0 mL min ⁻¹ , λ = 260 nm.....	56
Figura 8 - Gráfico de probabilidade normal para contrastes relacionados a resposta do número de bandas (n)	59
Figura 9 - Cromatogramas Planejamento Doehlert <i>G. max</i>	64
Figura 10 – (A) Gráfico de superfície de resposta para o número de bandas cromatográficas (n) de resposta no projeto Doehlert e (B) Fingerprint de <i>Glycine max.</i> Condições cromatográficas: C18 XSelect (150 x 4.6 mm d.i.; 5 μm), com pré-coluna (4 x 3 mm, 5μm), HPLC (Jasco®), Fase móvel: H ₂ O + 0,5% de ácido acético (A) e EtOH (B) no seguinte gradiente: 5-55% de B em 30 min. Vazão: 1 mL min ⁻¹ . Temperatura de análise: 35 °C; volume de injeção: 20 μL, λ = 260 nm. bandas: 3, daidzina; 4, glicitina; 5, genistina; 6, acetilgenistina; 7, daidzeína; 8, genisteína	70
Figura 11. Espectros na região do UV para os picos de 3-8 referentes as isoflavonas da soja.....	71
Figura 12 - Gráfico de número de bandas cromatográficas (n) previsto vs. experimental	72
Figura 13.- Pictogramas contendo os escores apresentados na métrica AGREE para (A) o método com bioetanol desenvolvido no presente trabalho e (B) o método de Kao e Chen (2002) e (C) Kim et al. (2014).....	81
Figura 14 - Cromatogramas de amostras comerciais de soja. Condições cromatográficas: C18 XSelect (150 x 4.6 mm d.i.; 5 μm), com pré-coluna (4 x 3 mm, 5μm), HPLC (Jasco®), Fase móvel: H ₂ O + 0,5% de ácido acético (A) e EtOH (B) no seguinte gradiente: 5-55% de B em 30 min. Vazão: 1 mL min ⁻¹ . Temperatura de análise: 35 °C; volume de injeção: 20 μL, λ = 260 nm. (A) Amostra de Neves Paulista, SP; (B) amostra de São José do Rio Preto,	

SP; (C) amostra de São João da Boa Vista, SP; (D) amostra de São Paulo, SP; (E) amostra de Hortolândia, SP; (F) amostra de Camaquã, RS. Bandas: 3, daidzina; 4, glicitina; 5, genistina; 6, acetilgenistina; 7, daidzeína; 8, genisteína.....	85
Figura 15 - a) TG/DTG-DSC e b) Mapa de contorno colorido 2D da soja em base seca total. Extrato Hidroetanólico – Soja (HS); Biomassa residual – Extrato hidroetanólico – Soja (RHS); Soja seca (SS)	90
Figura 16 - Determinação da temperatura de ignição (Ti) pelo método da tangente por TG.	93
Figura 17 - Curva DTG	93
Figura 18 - Cálculo dos efeitos da retirada de compostos da matriz soja- curva DTG....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação das isoflavonas de soja.	29
Tabela 2 - Fatores (variáveis) e níveis estabelecidos na triagem para desenvolvimento do método de eluição verde por HPLC-PDA de <i>G. max</i>	46
Tabela 3 - Planejamento fatorial fracionário com 2 níveis e 7 fatores (2_{IV}^{7-2}) para avaliação dos efeitos dos parâmetros cromatográficos das análises de <i>G. max</i> por HPLC-PDA.	47
Tabela 4 – Valores atribuídos às variáveis menos significativas do Planejamento Fatorial Fracionário.....	62
Tabela 5 - Variáveis e níveis investigados no design Doehlert.....	63
Tabela 6 - Análise de Variância (ANOVA) para o modelo recalculado representando o número de bandas cromatográficas (n) em função da Temperatura (X3) e % Inicial de etanol (X1).....	69
Tabela 7 - Compostos presentes no EHA das sementes de soja propostos por LC-MS e os correspondentes dados de UV e MS/MS.....	73
Tabela 8 - Comparação do desempenho do método proposto neste trabalho com dois métodos previamente relatados na literatura para a fingerprint de isoflavonas em soja por HPLC-PDA/UV.....	76
Tabela 9 - Parâmetros de entrada no software da métrica AGREE para cálculo do escore referente ao método cromatográfico verde desenvolvido neste trabalho para <i>G. max</i>	79
Tabela 10 - Parâmetros de entrada no software da métrica AGREE para cálculo do escore referente ao método de Kao e Chen (2002).....	80
Tabela 11 - Parâmetros de entrada no software da métrica AGREE para cálculo do score referente ao método cromatográfico desenvolvido, método de Kim et al. (2014).	81
Tabela 12 . Metabólitos secundários de <i>G. max</i>	86
Tabela 13 - Teores de umidade e cinzas das amostras analisadas.....	87
Tabela 14 - Soja: Faixas de temperatura (θ), perdas de massa (Δm) e temperatura de pico (T_p) para cada etapa das curvas TG-DSC em atmosfera de ar seco.....	91
Tabela 15 - Parâmetros de combustão das amostras, resíduo e extrato <i>G. max</i>	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
AGREE	<i>Analytical GREenEss Metric</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C18	Fase estacionária de fase reversa do tipo Octadecilsilano
C_b	Índice de burnout
CID	<i>Collision induced dissociation</i>
C_i	Índice de ignição
CoA	Coenzima A
D_v	Índice de matéria volátil liberada
DoE	<i>Design of Experiments</i>
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
EAT	<i>Environmental Assessment Tool</i>
EHA	Extrato hidroetanólico
EtOH	Etanol
ESI	<i>Electrospray ionization (Ionização por electrospray)</i>
FITR	<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i> (Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier)
GAC	<i>Green Analytical Chemistry</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
HPLC-EAT	<i>HPLC Environmental Assessment Tool</i>)
HPLC-ESI-IT-MS	<i>High performance liquid chromatography coupled mass spectrometry electrospray and ion trap</i>
HPLC-PDA	<i>High Performance Liquid Chromatography - Photodiode Array Detector</i> (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de Fotodiodos)
HS	Extrato hidroetanólico – Soja
ICH	<i>International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>
IEA	<i>International Energy Agency</i> (Agência Internacional de Energia)

IREA	<i>International Renewable Energy Agency</i> (Agência Internacional de Energia Renovável)
<i>m/z</i>	Razão massa carga
MAPs	Plantas medicinais e aromáticas
MeOH	Metanol
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massas)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNs	Produtos Naturais
RHS	Biomassa residual – Extrato hidroetanólico – Soja
R_p	Taxa máxima de perda de massa em % min ⁻¹
R_v	Taxa média de perda de massa em % min ⁻¹
DPR	Desvio padrão relativo
S	Índice de combustibilidade
SHE	<i>Safety, Health and Environment</i>
SS	Soja seca
SUS	Sistema Único de Saúde
T_v	Temperatura inicial de volatilização
TG-DSC	<i>Termogravimetria simultânea-calorimetria de varredura diferencial</i>
Tb	Temperatura de Burnout (queima)
t_i	Temperatura de ignição
TG	Análise Termogravimétrica
T_p	Temperatura de máxima perda de massa
tR	Tempo de retenção
UV	Ultravioleta
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

ABSTRACT	xvi
LISTA DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xx
1 INTRODUÇÃO.....	24
1.1 Produtos naturais (PNs): uma visão geral.....	24
1.2 Plantas Medicinais (Fitoterápicos) no tratamento de doenças crônicas	25
1.3 <i>Glycine max</i> (L.) Merr. (Fabaceae).....	28
1.4 Cromatografia verde	29
1.5 Cromatografia líquida de alta eficiência e análise multivariada.....	32
1.6 Métricas de monitoramento do impacto ambiental.....	33
1.7 Estudo térmico de plantas medicinais por termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial simultânea (TG-DSC).....	34
1.8 Estudo térmico de biomassa residual de extratos de plantas por TG-DSC	35
2 OBJETIVO	39
3 PARTE EXPERIMENTAL	41
3.1 Materiais, Reagentes e Soluções.....	41
3.2 Procedimentos gerais e instrumentação	41
3.2.1 Cromatografia analítica	41
3.2.2 HPLC-ESI-IT-MS	41
3.2.3 TG-DSC	42
3.2.4 Demais equipamentos utilizados.....	42
3.3 Metodologia	43
3.3.1 Etapa Botânica.....	43
3.3.2 Preparação do extrato hidroetanólico de <i>Glycine max</i>	43
3.3.3 Preparo de amostra (clean-up) do extrato hidroalcolólico para análises por HPLC.....	44
3.3.4 Condições cromatográficas	45
3.3.5 Desenvolvimento e otimização do método cromatográfico verde	45
3.3.6 Quimiometria e análise de dados	48

3.3.7 Métrica para o método cromatográfico verde otimizado	48
3.3.8 Avaliação do impacto ambiental: AGREE – Analytical GREENess.....	49
3.3.9 Validação do método cromatográfico verde	49
3.4 Análise TG-DSC.....	50
3.4.1 Avaliação dos parâmetros de combustão	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	53
4.1 Desenvolvimento do método cromatográfico verde para a análise de <i>G. max</i>	53
4.1.1 Avaliação do preparo de amostras (clean-up) por HPLC-PDA	53
4.1.2 Aplicação de avaliação do planejamento fatorial fracionário (2_{IV}^{7-2}).....	56
4.1.3 Otimização da condição de eluição cromatográfica de <i>G. max</i>	62
4.2 Identificação dos compostos por LC-ESI-MS/MS	73
4.3 Desempenho do método desenvolvido: comparação com métodos de referência	74
4.3.1 Métrica HPLC-EAT	74
4.3.2 Avaliação do impacto ambiental: AGREE – Analytical GREENess.....	78
4.4 Validação do método otimizado	83
4.4.1 Repetibilidade.....	83
4.4.2 Precisão intermediária	83
4.5 Aplicação da metodologia otimizada para analisar soja comercial	83
4.6 Análise térmica por TG-DSC	86
4.6.1 Termogravimetria simultânea - calorimetria de varredura diferencial (TG-DSC).....	86
4.6.2 Umidade e cinzas	87
4.6.3 Comportamento térmico e estabilidade.....	88
4.7 Análise de gás evoluído	91
4.8 Desempenho de Combustão.....	92
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
REFERÊNCIAS	99
APÊNDICE	108

1 INTRODUÇÃO

1.1 Produtos naturais (PNs): uma visão geral

Produtos naturais (PNs) são metabólitos primários e secundários produzidos e usados por organismos que na maioria dos casos são sintetizados como mecanismo de adaptação ou defesa contra uma diversidade de micro-organismos, herbívoros, insetos e plantas concorrentes (ZHU et al 2013; MAJEED et al., 2012).

Os metabólitos secundários derivados de PNs são produzidos a partir de intermediários biossintéticos (como acetil coenzima A (acetil-CoA), ácido chiquímico, ácido mevalônico) dos processos celulares básicos, como fotossíntese, glicólise e o ciclo de Krebs, após a modificação através de vários mecanismos e reações como alquilação, descarboxilação, formação de aldol, Claisen e base Schiff) (DEWICK, 2009). Dentre esses grupos de metabólitos estão alcaloides, terpenoides e compostos fenólicos (WINK, 2015) apresentando efeitos biológicos, como anti inflamatório (BERNSTEIN et al., 2018) anticâncer (SECA; PINTO, 2018) e propriedades antioxidantes (LI et al., 2018).

Estas moléculas provenientes de produtos naturais foram selecionadas naturalmente durante milhares de anos para melhorar a especificidade e abranger um leque muito amplo de funções, dependendo da origem, do habitat e da atividade específica desenvolvida no organismo de origem. Devido a essas características intrínsecas, os PNs têm sido usados como agentes de cura para fins terapêuticos há milhares de anos por uma fração significativa da população e ainda hoje continuam a ser a fonte mais importante de novas preparações terapêuticas potenciais (MAJEED et al., 2012; BERNARDINI et al., 2018).

A natureza foi e continua sendo capaz de fornecer diversos metabólitos secundários de caráter terapêutico isolados de diversas fontes. Um marco muito importante para a descoberta racional de drogas a partir de plantas foi o isolamento do analgésico e dos agentes indutores do sono como a morfina, do ópio por volta de 1804 (DIAS; URBAN; ROESSNER, 2012) pelo alemão Friedrich Sertürner, que descobriu uma nova classe de drogas, os alcalóides. Após o isolamento da morfina iniciou-se uma intensa investigação de outras ervas medicinais durante o século XIX, uma ampla gama de compostos vegetais, principalmente alcalóides como, cafeína, nicotina, cocaína, codeína e colchicina que foram isolados e purificadas de suas fontes naturais (BERNARDINI et al., 2018). Outro exemplo é a papaverina de *Papaver somniferum* esta planta é conhecida por ser a fonte de analgésicos como a morfina e a codeína (CRAGG; NEWMAN, 2013). Na década de 1970 duas novas moléculas, compactina e mevinolina, foram

capazes de inibir a biossíntese do colesterol, abrindo um novo importante campo de pesquisa baseado na produção de estatinas, conhecidos como 'medicamento de uso diário' (VERPOORTE; CHOI; KIM, 2005) que ainda hoje é uma aplicação médica de sucesso, importante no setor farmacêutico (BAKER et al., 2007). Um dos melhores exemplos do papel da etnomedicina na orientação da descoberta e do desenvolvimento de medicamentos é o dos medicamentos antimaláricos, exemplo o quinino isolado da casca da espécie *Cinchona officinalis* (CRAGG; NEWMAN, 2013).

Outros exemplos importantes de compostos ativos isolados de plantas medicinais incluem atropina (antagonista muscarínico) que age nas terminações nervosas parassimpáticas, inibindo-as isolado de *Atropa belladonna* em 1831; digoxina (tratamento da insuficiência cardíaca) isolado em 1869 de *Digitalis lanata*; e curare (relaxante muscular) isolado em 1943 de *Chondrodendron tomentosum* (DUTRA et al., 2016). Portanto é inquestionável que o estudo de produtos naturais representa um dos mais importantes campos da ciência e conhecimento tradicional sobre as plantas representam importantes fontes para o desenvolvimento de produtos terapêuticos para o tratamento de diversas doenças crônicas (NEWMAN; CRAGG, 2012)

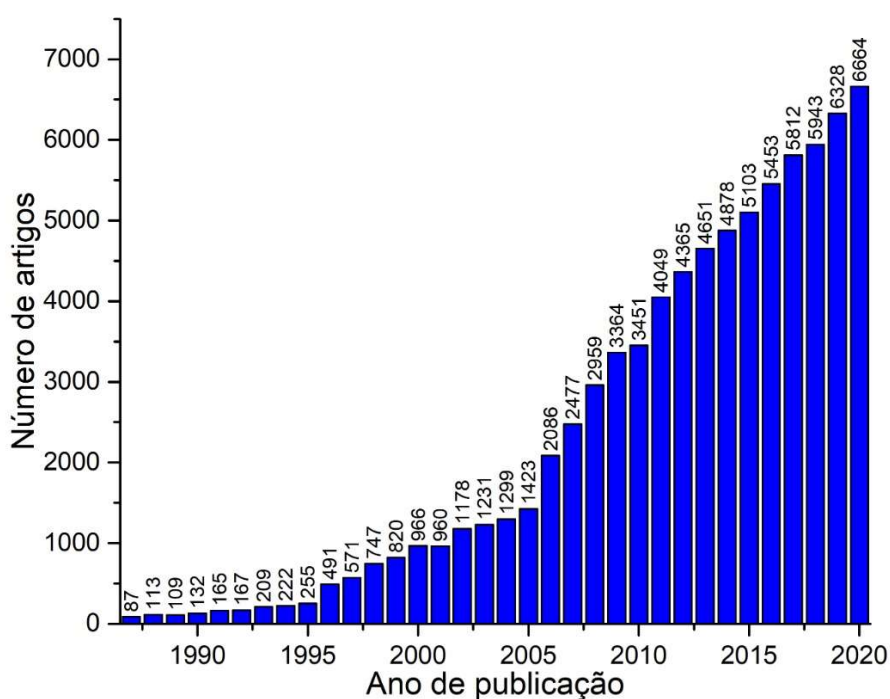
Sob esta ótica, sistemas à base de plantas continuam a desempenhar um papel fundamental na área da saúde, e na produção de medicamentos e seu uso por diferentes culturas tem sido documentado. A Organização Mundial da Saúde (OMS) incentiva os países a gerar políticas e estratégias baseados em evidências para o uso de plantas medicinais. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 65-80% da população dos países em desenvolvimento depende de plantas medicinais como a única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde primários, fazendo uso de fitoterápicos a base de plantas (ROSA; CÂMARA; BÉRIA, 2011). Uma pesquisa realizada sobre substâncias puras derivadas de plantas utilizadas como medicamentos em países de hospedagem tradicional pela OMS e Centros de Medicina indicou que, de 122 substâncias identificadas, 80% foram utilizados para os mesmos fins ou relacionados etnomédicos e foram derivados de pelo menos 94 espécies de plantas (CRAGG; NEWMAN, 2013).

1.2 Plantas Medicinais (Fitoterápicos) no tratamento de doenças crônicas

Fitoterápicos derivados de plantas foram e são usados como medicamentos tradicionais, remédios, infusões e óleos sem nenhum conhecimento a respeito dos compostos bioativos contidos em seu interior, mas apenas considerando os resultados de centenas de séculos de experiências humanas (KINGHORN et al., 2011).

No Brasil, existem várias plantas medicinais que são utilizadas como fitoterápicos pelas populações rurais e urbanas para o tratamento de diversas doenças crônicas (DUTRA et al., 2016; PIO et al., 2019). Tal constatação fica evidente pelo grande número de artigos publicados em revistas científicas utilizando a palavra-chave: plantas, como mostra a Figura 1. Cientistas brasileiros publicaram uma grande quantidade de artigos sobre plantas nos últimos 33 anos (entre os anos de 1987 e 2020)

Figura 1 - Número de artigos publicados por cientistas brasileiros sobre plantas nos últimos 33 anos.



Fonte: próprio autor

As palavras-chave utilizadas para a pesquisa foram: plantas. Na área de Ciências da Vida ou Ciências da Saúde (Área temática). Tipo de documento - artigo original ou revisão. Data: 27 de março de 2021. Fonte: Scopus.

Plantas brasileiras tituladas como medicinais ou fitoterápicos são vendidas em muitos estabelecimentos como farmácias, drogarias, lojas de cultivos, entre outros. Tendo em vista o grande aumento no uso, muitas vezes indiscriminado, de plantas medicinais, tem-se observado maior interesse por parte de cientistas e empresas farmacêuticas, no sentido de entender melhor a composição química dessas plantas, e assegurar não só a eficácia, mas também a segurança

do seu uso (AMEH et al., 2010). Sendo que muitas espécies vegetais utilizadas pela população apresentam alta toxicidade, não possui ação farmacológica comprovada, nem composição química definida se tornando indispensável a normatização e a regulamentação desses medicamentos exigidas pelo mercado mundial e pelas autoridades governamentais (HUSAIN et al., 2017). Ficando evidente que o controle de qualidade é uma etapa essencial para que uma planta possa ser utilizada como fitoterápico (LI; ZHAO; YANG, 2011).

Fingerprint adequada é sugerida por agências como a *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e a Organização Mundial da Saúde (OMS). Um fingerprint cromatográfico pode ser definida como um perfil químico obtido por análise cromatográfica, que fornece uma quantidade considerável de informações e pode ser empregada como um parâmetro de qualidade (por exemplo, extratos de plantas). Além disso, métodos de fingerprint podem ser usados para determinar os metabólitos presentes nos extratos de plantas (TISTAERT; DEJAEGHER; HEYDEN, 2011; SOUZA et al., 2018). Esgotando-se portanto os estudos laboratoriais e comprovando a eficácia de uma planta medicinal, a mesma pode ser comercializada como um medicamento denominado fitoterápico.

O Ministério da Saúde divulgou, em 2009, uma lista contendo 71 plantas medicinais, denominada Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (Rennisus). A Rennisus contém plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS. A finalidade da lista é orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da relação de fitoterápicos disponíveis para uso da população, com segurança e eficácia para o tratamento de determinada doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Tendo em vista a importância da implementação de produtos naturais como alternativa terapêutica para diversas doenças, por serem de baixo custo os medicamentos fitoterápicos são utilizados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e aprovados pela Agência de Vigilância Sanitária (Anvisa). Por isso, são considerados seguros e eficazes para a população.

Glycine max (L.) Merr. (Fabaceae), popularmente conhecida como soja, espécie da Rennisus, foi selecionado segundo os critérios exigidos pelo Ministério da Saúde: ampla distribuição geográfica, facilidade de cultivo, produtividade, disponibilidade atual, baixa toxicidade, baixa incidência de efeitos colaterais, caracterização química qualitativa e quantitativa e propriedades terapêuticas cientificamente avaliadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

1.3 *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae)

A soja (*G. max*) é uma das mais importantes culturas em todo o mundo, não apenas por ser uma importante fonte de óleo e proteína, mas também de metabólitos secundários (KIM et al., 2014) sendo também utilizada para a produção de biodiesel, leite de soja e tofu. Também é utilizado para a produção de etanol, pois sua casca contém grande teor de carboidratos (MIELENZ; BARDSLEY; WYMAN, 2009).

O Brasil e os Estados Unidos são os maiores produtores de soja do mundo. A produção para a safra de sementes 2020/2021 é estimada em 133,7 milhões de toneladas (USDA, 2020).

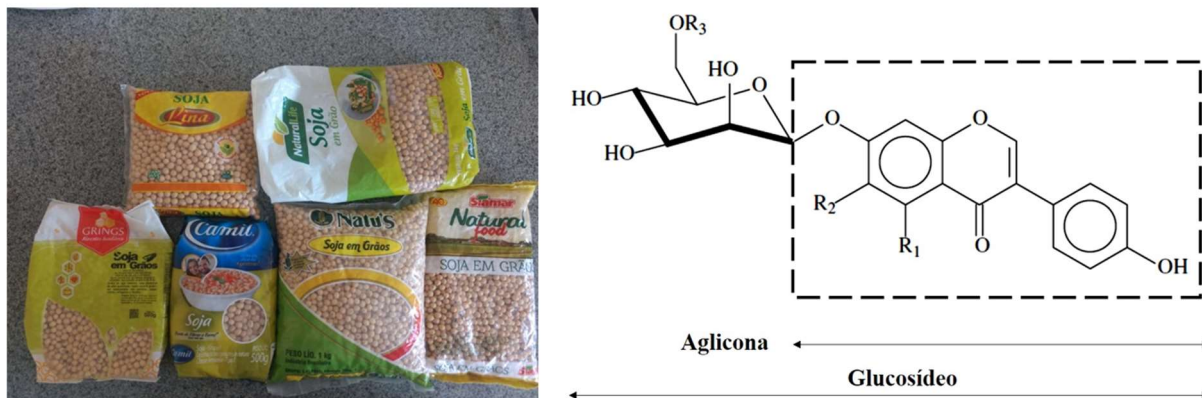
A soja foi amplamente utilizada como material alimentar nutritivo por muitas décadas devido suas propriedades benéficas à saúde, incluindo capacidades anticarcinogênicas, antioxidantes, antimetastáticas e antiestrogênicas. Tais propriedades deve-se ao alto teor proteico e óleo, bem como vários metabólitos secundários (fenólicos, isoflavonas, triterpenóides, saponinas, vitaminas, tocoferóis e aminoácidos) (LEE et al., 2018).

Dentre seus metabólitos secundários em destaque estão as isoflavonas presentes em doze compostos: daidzina, genistina, glicitina, 6-*O*-acetildaidzina, 6-*O*-acetilgenistina, 6-*O*-acetilglicitina, 6-*O*-malonildaidzina, 6-*O*-malonilgenistina, 6-*O*-malonilglicitina, daidzeína, genisteína e gliciteína (NIAMNUY et al., 2011; LEE et al., 2008) (Figura 2, Tabela 1).

Elas desempenham um papel importante na prevenção de doenças crônicas, apresentando efeito anticancerígeno e atividade antioxidante. Estes componentes podem trazer benefícios no controle e prevenção de doenças como câncer (ovário, pulmão, próstata e cólon) (CHEN et al., 2014; LEE et al., 2015) diabetes mellitus, osteoporose e doenças cardiovasculares devido a mecanismos como diminuição nos níveis de colesterol total decorrente do aumento na atividade de receptores das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (ZAFRA-GÓMEZ et al., 2010). Sendo benéficas para redução do peso corporal e a glicose no sangue e a perda do controle da insulina após a menopausa, como também são úteis no aumento da densidade mineral óssea em mulheres (LIU et al., 2009; SONG; PAIK; JOUNG, 2008).

As isoflavonas são responsáveis também pela defesa natural das plantas como a fitoalexina contra fungos patogênicos e alimentação de insetos (SVETAZ et al., 2004). Portanto são categorizadas como os grupos mais cruciais para os aspectos farmacêuticos e funcionais (QJAO et al., 2014). E são de grande interesse pelos pesquisadores para o desenvolvimento de alimentos funcionais e suplementos dietéticos de soja.

Figura 2 - Sojas comerciais e Estruturas das isoflavonas agliconas e glucosídicas presentes nas sementes de soja.



Fonte: próprio autor

Tabela 1 - Classificação das isoflavonas de soja.

Nome	Abrev.	R1	R2	R3
Genisteína	Ge	OH	H	
Gliciteína	Gli	H	OCH ₃	
Daidzina	Din	H	H	H
Genistina	Gin	OH	H	H
Glicitina	Glin	H	OCH ₃	H
6''- O-acetilaidzina	Adin	H	H	COCH ₃
6''- O-acetilgenistina	Agin	OH	H	COCH ₃
6''- O-acetilglicitina	Aglin	H	OCH ₃	COCH ₃
6''- O-Malonilaidzina	Mdin	H	H	COCH ₂ COOH
6''- O-Malonilgenistina	Mgin	OH	H	COCH ₂ COOH
6''- O-Malonilglicitina	Mglin	H	OCH ₃	COCH ₂ COOH

1.4 Cromatografia verde

A maioria dos estudos de plantas medicinais tem como principais objetivos a comprovação (ou não) científica dos relatos etnofarmacológicos e, com isso, pode proporcionar alternativas naturais (de baixo custo e sustentáveis) para o tratamento das enfermidades. Nesse sentido, percebe-se uma contradição de termos: estudos que visam alternativas naturais utilizarem solventes/reagentes tóxicos que prejudicam a natureza.

Essa contradição ou preocupação tem levado pesquisadores a desenvolver novas estratégias para os estudos na área de química de um modo geral, como relata LENARDÃO et al., 2003.

Chamada de “química limpa”, a química verde é uma filosofia elaborada por ANASTAS E WARNER (1998) que, baseada em 12 princípios básicos, tem a preocupação de desenvolver meios capazes de diminuir os impactos causados ao meio ambiente, reduzindo ou eliminando

substâncias tóxicas geradas pelas indústrias ou até mesmo por meios comerciais. Tais princípios são:

1. Prevenir a formação de subprodutos;
2. Economia de átomos;
3. Sínteses com compostos de menor toxicidade;
4. Desenvolvimento de compostos seguros;
5. Evitar o uso de solventes e auxiliares;
6. Diminuir a energia gasta durante um processo químico;
7. Utilização de substâncias recicladas;
8. Diminuição de derivativos;
9. Uso de catalisadores;
10. Desenvolvimento de compostos para degradação;
11. Controlar a formação de compostos tóxicos para a prevenção da poluição;
12. Uso de substâncias seguras para evitar acidentes tais com explosões e incêndios;

As abordagens abaixo supracitadas são contempladas pela aplicação dos princípios da Química Analítica Verde (*Green Analytical Chemistry*, ou GAC; GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013) que elaboraram 12 princípios, baseados nos da Química Verde, para abranger melhor as análises químicas que são:

- 1) Técnicas analíticas diretas devem ser empregadas para evitar tratamento de amostra;
- 2) As dimensões e quantidade das amostras devem ser minimizadas;
- 3) Medições in situ são prioritárias;
- 4) Deve ocorrer a integração entre processos e operações analíticas;
- 5) Métodos automatizados e miniaturizados têm preferência;
- 6) Deve-se evitar derivação;
- 7) Geração de resíduos deve ser muito reduzida e um manejo adequado dos mesmos deve ocorrer;
- 8) Métodos multianálito ou multiparamétricos são prioritários;
- 9) O gasto de energia deve ser o mínimo possível;
- 10) O uso de reagentes oriundos de fontes renováveis tem prioridade;
- 11) Reagentes tóxicos devem ser eliminados ou substituídos;
- 12) A segurança do analista deve ser maior.

Os estudos de plantas medicinais, de um modo geral envolve vários procedimentos tais como: coleta do material vegetal, preparação dos extratos, fracionamento dos extratos e identificação dos metabólitos secundários. Desses procedimentos citados, a extração e fracionamento são os que utilizam maior quantidade de solventes orgânicos como fase móvel (HYÖTYLÄINEN, 2009). Os solventes de fato representam um grande desafio na área de Química Verde por estarem relacionados diretamente a grande parte dos processos analíticos e estão relacionados a desperdício de massa, poluição ambiental e risco a saúde dos analistas (ANASTAS; EGHBALI, 2010).

Os solventes acetonitrila e metanol são de longe os solventes mais utilizado em HPLC devido suas características únicas (KAO; CHEN, 2002; HSIEH; KAO; CHEN, 2004; PEÑALVO; NURMI; ADLERCREUTZ, 2004; SUN et al., 2011; KIM et al., 2014; SHIM et al., 2015; LANTE et al., 2018; LI et al., 2018), como dissolução de uma ampla gama de solutos, baixa acidez, reatividade química mínima, baixa absorvância na região do ultravioleta e compatibilidade com a espectrometria de massas. Entretanto geram grande quantidade de resíduos e são potencialmente tóxicos (WELCH et al., 2010; PRAT; HAYLER; WELLS, 2014; PRAT et al., 2015).

Portanto, para auxiliar pesquisadores e indústrias a substituir solventes não-verdes ou implementar novos métodos verdes de análises, foram gerados guias de seleção de solventes verdes, que pudessem orientar no desenvolvimento de novos produtos e processos utilizando solventes ambientalmente amigáveis (PRAT et al., 2015; TOBISZEWSKI; NAMIEŚNIK; PENA-PEREIRA, 2017).

O emprego de solventes mais ecológicos como alternativas aos solventes tóxicos tradicionais, é uma importante estratégia para diminuir a geração de resíduos. Entre possíveis candidatos estão o etanol e acetona, mas o último nem sempre é adequado quando um detector baseado em absorção na região do ultravioleta (UV) é empregado, porque seu limite de UV se estende a 330 nm, então a acetona é aplicável apenas a analitos que absorvem em alta comprimentos de onda (FUNARI et al., 2014). Portanto, o etanol se torna a primeira opção, porque em comparação com solventes de acetonitrila e metanol, é considerado o mais verde, menos tóxico, tem baixa volatilidade, miscibilidade de água, viscosidade relativamente aceitável, absorção UV em 210 nm, biodegradabilidade e pode ser obtido por fermentação de fontes renováveis como a partir de cereais e cana de açúcar e é biodegradável, o que são características desejáveis para um solvente considerado verde (WELCH et al., 2010; FUNARI et al., 2014; OLIVES; GONZÁLEZ-RUIZ; MARTÍN, 2017).

É um desafio substituir o acetonitrila (o solvente mais amplamente usado em cromatografia líquida) por etanol, considerando que ambos os solventes pertencem a diferentes grupos de seletividade. No entanto, em relação cromatografia líquida de fase reversa, a seletividade, retenção e eficiência geral podem ser influenciadas pela temperatura uma vez que essa é capaz de alterar o pH e a constante dielétrica da fase móvel, bem como pKa e difusão de analitos e arranjo de ligantes de fase estacionária (GRITTI; GUIOCHON, 2006; HEINISCH; ROCCA, 2009; FUNARI et al., 2014).

Uma vez que a temperatura é intimamente relacionada à cinética e termodinâmica da separação cromatográfica esta variável pode ser racionalmente empregada para substituir um solvente perigoso por uma alternativa mais verde que eventualmente pertence a um grupo diferente de seletividade. Embora o aumento das temperaturas possa reduzir a viscosidade apenas em algumas circunstâncias (DOLAN, 2003; VANHOENACKER; SANDRA, 2006; HEINISCH; ROCCA, 2009) e pode não funcionar universalmente, é sabido que esta estratégia pode melhorar a seletividade e desempenho de separação usando um solvente menos tóxico e ainda levar a um método de eluição globalmente mais ecológico (WELCH et al., 2010; FUNARI et al., 2014).

1.5 Cromatografia líquida de alta eficiência e análise multivariada

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando HPLC tornou-se uma técnica determinante em análises agrícolas, farmacêuticas de plantas herbáceas e medicinais para controle de qualidade dos mais diversos produtos. Mas é um processo trabalhoso, exigindo extensa pesquisa literária em química para entender a complexidade das matrizes, e subsequentemente desenvolver um método analítico baseado na abordagem de diversos parâmetros que podem interferir na separação dos constituintes químicos e que são comumente avaliados uma de cada vez. Com isso, o processo se torna demorado e requer um grande número de execuções experimentais (GANORKAR; SHIRKHEDKAR, 2017).

No entanto, a HPLC, associada a experimentos multivariados, está se tornando cada vez mais utilizada para desenvolver métodos de eluição para matrizes complexas, como plantas.

Estudos recentes demonstraram o desenvolvimento de métodos de HPLC associados a análise quimiométrica de dados multivariados, altamente robustos e em consoante com os princípios de química analítica verde, e portanto ecologicamente corretos. Utilizando de solventes verdes como etanol ou bioetanol (grau alimentício) cumprindo com a boa seletividade e separação dos produtos naturais. (PELISSARI et al., 2021; FUNARI et al., 2014; SOUZA et al., 2018; BORGES et al., 2020)

Esta abordagem envolve o estudo simultâneo de diversas variáveis e gera resultados mais confiáveis e robustos, extraindo o máximo de informações úteis dos dados, identificando interações entre as variáveis estudadas e reduzindo o número de experimentos, reagentes (solventes orgânicos) e energia gasto (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010; FERREIRA et al., 2004). Portanto tem sido usada como uma abordagem mais simples e eficiente para examinar o efeito de todas as variáveis na resposta de interesse, ajudando a determinar as variáveis mais importantes (BELAZ, 2013).

Para o design do desenvolvimento do método, triagem de experimentos, como o planejamento fatorial completo e modelo fatorial fracionário, e metodologia de superfície de resposta são as maneiras mais populares utilizadas para obtenção de *fingerprints* cromatográficos de plantas. O planejamento experimental Doehlert é facilmente aplicado para otimizar variáveis e oferece vantagens sobre os planejamentos composto central e Box-Behnken. O benefício deste experimento é que exige menos experimentos, que são mais eficientes devido à diminuição do número de experimentos, além desta metodologia ser mais ecologicamente correta devido à menor geração de resíduos químicos (Ferreira et al., 2004). Esta estratégia tem várias vantagens, pois permite a análise comparativa de um grande número de amostras.

Até onde sabemos, as fases estacionárias de fenil-hexil, etanol, e planejamento de experimento e métricas para o monitoramento de sustentabilidade de um método no que diz respeito ao quanto um método é verde, nunca foram simultaneamente empregados no desenvolvimento de métodos cromatográficos de HPLC para soja.

1.6 Métricas de monitoramento do impacto ambiental

Na literatura, várias métricas têm sido descritas para avaliar o impacto ambiental de um método analítico; cada uma tem vantagens e desvantagens (FUNARI et al., 2014; SANDRA et al., 2010). No caso de métodos para HPLC, a HPLC-EAT (HPLC-Environmental Assessment Tool) foi considerado o mais adequado, porque permite a diferenciação precisa e classificação de métodos para HPLC (FUNARI et al., 2014, GABER et al., 2011).

HPLC-EAT foi utilizada para avaliar o grau de impacto ambiental do método analítico desenvolvido para *G. max* e estimar o impacto ambiental do método em comparação com outros métodos descritos na literatura para propósitos similares (KAO; CHEN, 2002; KIM et al., 2012).

A abordagem HPLC-EAT determina uma pontuação relacionada às características dos solventes empregados, como afetam o meio ambiente e os riscos que podem representar para a saúde e segurança do operador. Quanto menor a pontuação, menor o impacto ambiental do método e, conseqüentemente, mais verde é considerado o método (GABER et al., 2011).

A métrica *AGREE* (*Analytical GREenEss Metric*, PENA-PEREIRA; WOJNOWSKI; TOBISZEWSKI, 2020) foi utilizada como alternativa a métrica HPLC-EAT por se tratar também de uma abordagem de avaliação abrangente, flexível e direta para avaliar os impactos ambientais e ocupacionais de um procedimento analítico baseado nos 12 princípios da Química Analítica Verde (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI, NAMIEŚNIK, 2013).

1.7 Estudo térmico de plantas medicinais por termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial simultânea (TG-DSC)

Outro viés pouco explorado é o comportamento térmico de extratos vegetais e biomassa residual de plantas medicinais e aromáticas (MAPs) como a soja.

A análise térmica se trata de um conjunto de técnicas que possibilitam medir as propriedades físicas de uma substância em função da temperatura/tempo. Elas apresentam vantagens, uma vez que fornecem resultados mais rápidos, requerem quantidade mínimas de amostras, menor gastos de tempo e permite a verificação simultânea do teor de umidade e cinzas, fornece todo o perfil termoanalítico da amostra com menor margem de erro estando de acordo com os princípios de química analítica verde (FERNANDES et al., 2013; GAŁUSZKA; MIGASZEWSKI; NAMIEŚNIK, 2013).

Dentre as técnicas termoanalíticas utilizadas na área farmacêutica estão: Termogravimetria (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2014).

A termogravimetria (TG) é uma técnica utilizada para determinar a variação de massa de uma amostra em função da temperatura ou tempo e expressa os resultados na forma de um gráfico denominado curva TG. Essa curva fornece informações sobre a estabilidade térmica e composição da amostra (IONASHIRO; GIGANTE; CAIRES, 2012). A partir da primeira derivada da curva TG obtém-se a curva termogravimétrica derivada ou DTG. Na qual a derivada da curva de variação de massa em relação ao tempo ou temperatura, dm/dt ou dm/dT , respectivamente, é registrada em função do tempo ou temperatura (DE SOUZA ARAÚJO et al., 2006). Estes picos apresentam área proporcional à alteração de massa na amostra,

permitindo observar a intensidade do processo de perda de massa (IONASHIRO; GIGANTE; CAIRES, 2012).

A partir da curva DSC é possível medir a razão do fluxo de energia (calor) fornecida à substância e a um material de referência em função da temperatura, tanto em condições de aquecimento quanto de resfriamento. O instrumento fornece um gráfico de temperatura em função do fluxo de calor. Conseqüentemente, a temperatura e a energia associada aos eventos, tais como: fusão, calor específico, transição vítrea, cristalização, sublimação, decomposição e transições cristal líquido, podem ser avaliadas (DE SOUZA ARAÚJO et al., 2006; DENARI et al., 2012).

A análise térmica tem sido considerada uma ferramenta importante no desenvolvimento de métodos analíticos, na caracterização de compostos de fitoterápicos, seus produtos e extratos. Segundo a farmacopeia brasileira 6ª edição (2010) a análise térmica pode ser utilizada para avaliação do comportamento térmico, determinação da temperatura de ebulição e sublimação, teor de umidade e/ou solventes, determinação do teor de cinzas através da termogravimetria (IONASHIRO; CAIRES; GOMES, 2014).

No contexto da fitoterapia, extratos vegetais são submetidos a diversas variações térmicas, seja pelos processos de extração dos fitoterápicos, ou por variações ambientais no armazenamento das amostras. Seguem-se, ainda, fenômenos térmicos decorrentes das reações orgânicas inerentes ao processo terapêutico intermediado pelos agentes químicos presentes no fitofármaco (DE OLIVEIRA; YOSHIDA; DE LIMA GOMES, 2011; FLORES; SINGH; KONG, 2014).

Vários autores demonstram a aplicação de diferentes técnicas de análise térmica no setor farmacêutico, que são muito importantes nas etapas de desenvolvimento dos fármacos, padronização e caracterização de extratos secos de plantas medicinais garantindo maior segurança e eficácia no uso (WESOŁOWSKI; KONIECZYŃSKI, 2003; FERREIRA et al., 2017).

1.8 Estudo térmico de biomassa residual de extratos de plantas por TG-DSC

A produção e o consumo de energia estão impactando o meio ambiente em todo o mundo. Como resultado, a conscientização relacionada à segurança energética, mudanças climáticas e uma abordagem ambientalmente correta tem sido o foco de ações (HASSAN; LIM; HAMEED, 2016; CHEN et al., 2017). Conforme apontado pela ONU sobre mudanças climáticas e agências como a *International Energy* (IEA) e *International Renewable Energy*

(IREA), aumentar a produção de energia não fóssil no consumo total de energia é de extrema importância para controlar as mudanças climáticas (KRAVANJA; VARBANOV; KLEMEŠ, 2015; BHATTACHARYA et al., 2016). Dentre esses recursos energéticos renováveis, a biomassa se destaca.

Biomassa é qualquer recurso renovável de matéria orgânica (de origem animal ou vegetal) que pode ser utilizado na produção de energia. A fração orgânica contida nos produtos de resíduos agrícolas de plantas e animais, florestais, indústrias e a fração biodegradável de outros resíduos como os municipais são exemplos de biomassa (MOUSTAKAS; PARMAXIDOU; VAKALIS, 2020) O uso da biomassa, seja por conversão termoquímica ou por processos biológicos, é considerado um caminho para a produção de energia renovável e pode ser uma fração significativa da matriz energética, abrindo caminho para uma rede energética mais sustentável. A biomassa é uma alternativa para a dependência de combustíveis fósseis na geração de energia e uma abordagem para reduzir as emissões de gases de efeito estufa e a poluição atmosférica (CHEN et al., 2017).

A biomassa residual gera grandes quantidades de resíduos sólidos. É um subproduto que pode ou não ser um resíduo (OLOFSSON; BÖRJESSON, 2018) de processos agroindustriais nos setores de fitoterápicos, perfumaria e cosméticos utilizando plantas medicinais e aromáticas (MAPs). Eles são gerados a partir de processos de destilação a vapor de plantas medicinais e são originados da parte não utilizada da planta após a extração do óleo essencial. Apenas 5% de toda a planta é extraída, o que gera uma grande quantidade de resíduos sólidos. Cerca de 200.000 toneladas de resíduos são geradas em todo o mundo durante os processos de extração de plantas aromáticas e podem ser reciclados e convertidos aplicando processos de extração, hidrólise, pirólise, entre outros. Embora essa biomassa seja neutra em carbono e não afete a atmosfera com a emissão de poluentes como o CO₂, essa biomassa residual torna-se um resíduo e requer um processo adequado de reciclagem para evitar consequências ambientais (ZHU et al., 2012; SAYED-AHMAD et al., 2017). A biomassa residual das plantas medicinais é composta principalmente por celulose, hemicelulose e lignina (ROUT et al., 2015). É rico em compostos polifenólicos e diversos compostos bioativos que podem ser usados na produção de biogás (WANG et al., 2013) produtos de valor agregado como biossorventes no tratamento do solo (BASAK, 2017), biocombustível lignocelulósico (ZHELJAZKOV et al., 2018), biopesticidas (TRAKA et al., 2018).

A soja (*Glycine max* L.) é um exemplo de planta medicinal amplamente utilizada no setor industrial por ser utilizada como alimento com diversas aplicações, além de possuir propriedades fitoterápicas. A maior parte do resíduo de soja não é totalmente aproveitada. É

descartado como resíduo industrial, causando grandes problemas ambientais devido às grandes quantidades de água e nutrientes presentes, que promovem o crescimento de microrganismos (CHEN et al., 2014).

Nosso grupo demonstrou extrações eficientes de compostos de alto valor agregado presentes no resíduo da soja no campo, utilizando solventes verdes como etanol e acetona (CARNEIRO et al., 2020). Esse estudo combinado a uma abordagem termoanalítica auxiliam em tomadas de decisões que levem em consideração a relação custo/benefício dos processos.

O desenvolvimento e a otimização de técnicas termogravimétricas (TG) têm sido consideradas uma importante ferramenta termoanalítica na análise da combustão de resíduos vegetais agrícolas. É simples, eficiente, de baixo custo e promove a redução do fluxo de resíduos, geração e reaproveitamento de energia. Como a combustão é responsável por 97% da produção mundial de bioenergia, segundo Chen e coautores (CHEN et al., 2017) o estudo de fontes alternativas de energia para a combustão é de extrema importância. O estudo do comportamento térmico e dos parâmetros térmicos da biomassa sob combustão pode contribuir para o melhor entendimento e otimização da geração de energia por conversão de biomassa.

Existem poucos estudos termoanalíticos relacionados a resíduos vegetais de plantas medicinais. Portanto, a investigação do comportamento térmico desses materiais pode certamente contribuir para esta área, proporcionando conhecimentos termodinâmicos e de combustão sobre resíduos agrícolas, principalmente aqueles provenientes de plantas medicinais e aromáticas (MAPs).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todo o processo de desenvolvimento do método foi delineado pelos princípios de Química Verde e Química Analítica Verde para reduzir o número de experimentos, quantidade de resíduos, tempo e energia gastos, além de ser mais seguro para analistas. Essa abordagem multivariada respeitou o Princípio 8, a quantidade mínima de material vegetal utilizada respeitou o Princípio 2, o solvente tóxico acetonitrila foi substituído pelo menos tóxico EtOH permitindo a redução de resíduos tóxicos e concordando com os Princípios 7, 10, 11 e 12 da Química Verde.

Este estudo demonstrou que planejamento experimental é uma abordagem que pode ser empregada para desenvolvimento de métodos cromatográficos verdes para HPLC. Porém, é importante ressaltar que no processo de desenvolvimento cromatográfico parâmetros ambientais devem ser levados em consideração no processo de otimização, principalmente na atribuição de valores das variáveis que não foram significativas no modelo matemático determinado. O método verde desenvolvido é inédito para análises da composição química de sementes de soja.

É importante ressaltar que o EtOH indicado para o método foi o bioetanol (EtOH grau alimentício de origem fermentativa), o que torna o método sustentável e menos custoso em razão de suas propriedades como biodegradabilidade, origem renovável, preço muito inferior em relação aos solventes grau HPLC tradicionais e maior disponibilidade, além de oferecer a possibilidade de análise sem a geração de resíduos tóxicos que necessitam de tratamentos custosos.

O método proposto foi comparado com dois métodos de referências (Kao e Chen, 2002; Kim et al., 2014) utilizando as métricas HPLC-EAT e AGREE e, em ambas as métricas o método desenvolvido apresentou pontuações que o classifica com mais verde do que os métodos comparados.

A eficiência do método desenvolvido foi determinada pelas figuras de mérito no processo de validação e pelas análises de seis amostras comerciais de soja produzidas em diferentes localidades do Brasil, evidenciando que o método desenvolvido pode ser aplicado na determinação de isoflavonas de soja.

Portanto, o método de HPLC verde e sustentável pode ser uma alternativa eficiente e de menor custo para aplicação em análises de rotina, aquelas que geram grandes volumes de descarte de solventes, como controle de qualidade de produtos derivados da soja.

Com relação ao estudo térmico, foi avaliado o efeito da extração hidroetanólica sobre o parâmetro de combustão da biomassa residual da soja. A amostra inicial apresentou menor estabilidade térmica em comparação com a biomassa residual. Os intermediários da decomposição térmica dos compostos extraídos apresentaram temperaturas mais elevadas. Portanto, a biomassa residual apresentou menores quantidades de perda de massa em temperaturas mais elevadas em comparação com a amostra inicial.

As características da decomposição térmica e termo-oxidativa de biomassa de *Glycine max* (soja) foram avaliados por TG-DSC simultâneo. O efeito da extração hidroetanólica sobre os parâmetros de combustão da biomassa residual e a estabilidade térmica dessa amostra foram afetados pelo método de extração. Pode-se observar que os parâmetros de combustão da biomassa residual são inferiores aos da soja seca e do extrato hidroetanólico, sendo que os parâmetros de combustão do extrato são superiores aos demais (soja seca e biomassa residual). Assim, foi possível atribuir a capacidade de combustão em maior parte aos compostos presentes no extrato. Com isso conclui-se que a extração pode afetar os parâmetros de combustão.

REFERÊNCIAS

- ALAERTS, G. et al. Recent developments in chromatographic fingerprints from herbal products: set-up and data analysis. **Combinatorial chemistry & high throughput screening**, v. 13, n. 10, p. 900-922, 2010.
- AMEH, S. J. et al. Current phytotherapy - A perspective on the science and regulation of herbal medicine. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 2, p. 072–081, 2010.
- ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 1, p. 301–312, 2010.
- ANASTAS P.T, WARNER J.C. **Green Chemistry: Theory and Practice**. Oxford: Oxford University Press; 2008.
- ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Green analytical chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 497-511, 2008.
- BAKER, D. D. et al. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. **Natural Product Reports**, v. 24, n. 6, p. 1225–1244, 2007.
- BASAK, B. B. Phosphorus Supplying Capacity of Value Added Compost Prepared from Low-Grade Indian Rock Phosphates and Crop Residue. **Waste and Biomass Valorization**, v. 8, n. 8, p. 2653–2662, 2017.
- BARNES, S.; KIRK, M.; COWARD, L. Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 11, p. 2466-2474, 1994.
- BELAZ, K. R. A.; PEREIRA-FILHO, E. R.; OLIVEIRA, R. Development of achiral and chiral 2D HPLC methods for analysis of albendazole metabolites in microsomal fractions using multivariate analysis for the *in vitro* metabolism. **Journal of Chromatography B**, v. 932, p. 26-33, 2013.
- BERNARDINI, S. et al. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. **Natural Product Research**, v. 32, n. 16, p. 1926–1950, 2018.
- BERNSTEIN, N. et al. **Antiinflammatory Potential of Medicinal Plants: A Source for Therapeutic Secondary Metabolites**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. v. 150
- BHATTACHARYA, M. et al. The effect of renewable energy consumption on economic growth: Evidence from top 38 countries. **Applied Energy**, v. 162, p. 733–741, 2016.
- BORGES, M. S. et al. A green and sustainable method for monitoring the chemical composition of soybean: an alternative for quality control. **Phytochemical Analysis**, n. August, p. 1–13, 2020.
- BOX G. E, HUNTER W. H, HUNTER S. **Statistics for Experimenters**. New York: John Wiley & Sons; 1978.
- BURATTI, C. et al. Thermogravimetric analysis of the behavior of sub-bituminous coal and cellulosic ethanol residue during co-combustion. **Bioresource Technology**, v. 186, p. 154–62, jun. 2015.

- CARNEIRO, A. M. et al. Soya agricultural waste as a rich source of isoflavones. **Food Research International**, v. 130, n. April 2019, p. 108949, 2020.
- CASSINI, S. T. A. et al. Validation of the acetonitrile-free analytical method for microcystin analysis by high performance liquid chromatography. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1208-1213, 2013.
- CAPELLO, C.; FISCHER, U.; HUNGERBÜHLER, K. What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents. **Green Chemistry**, v. 9, n. 9, p. 927-934, 2007.
- CHEN, J. et al. Comparative evaluation of thermal oxidative decomposition for oil-plant residues via thermogravimetric analysis: Thermal conversion characteristics, kinetics, and thermodynamics. **Bioresource Technology**, v. 243, p. 37–46, 2017.
- CHEN, Y. et al. Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and in vivo evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 120, n. 1, p. 1–8, 2014.
- CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v. 1830, n. 6, p. 3670–3695, 2013.
- DEJAEGHER, B.; VANDER HEYDEN, Y. Experimental designs and their recent advances in set-up, data interpretation, and analytical applications. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 56, n. 2, p. 141-158, 2011.
- DENARI, B. G.; CARVALHEIRO, É. T. G. C. M. Princípios e Aplicações de Análise Térmica. Material de apoio, Curso Teórico/Prático. Universidade São Paulo, Instituto de Química de São Carlos. Julho/Agosto, 2012.
- DE OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; DE LIMA GOMES, E. C. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224–1230, 2011.
- DE SOUZA ARAÚJO, A. A. et al. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 2, p. 269–277, 2006.
- DIAS, D. A.; URBAN, S.; ROESSNER, U. A Historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303–336, 2012.
- DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2002.
- DOEHLERT, D. H. Uniform shell designs. **Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)**, v. 19, n. 3, p. 231-239, 1970.
- DOLAN, J. W. LC TROUBLESHOOTING LC Columns — The Top-10 List. n. April, p. 2–4, 2003.
- DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, 2016.

- FERNANDES, F. H. A. et al. Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 113, n. 2, p. 443–447, 2013.
- FERREIRA, S. L. C. et al. Doehlert matrix: A chemometric tool for analytical chemistry - Review. **Talanta**, v. 63, n. 4, p. 1061–1067, 2004.
- FERREIRA, B. D. L. et al. Kinetic study of anti-HIV drugs by thermal decomposition analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 1, p. 577–585, 2017.
- FLORES, F. P.; SINGH, R. K.; KONG, F. Physical and storage properties of spray-dried blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. **Journal of Food Engineering**, v. 137, p. 1–6, 2014.
- FUNARI, C. S. et al. Green chromatographic fingerprinting: An environmentally friendly approach for the development of separation methods for fingerprinting complex matrices. **Journal of Separation Science**, v. 37, n. 1–2, p. 37–44, 2014.
- FUNARI, Cristiano S. et al. Acetone as a greener alternative to acetonitrile in liquid chromatographic fingerprinting. **Journal of separation science**, v. 38, n. 9, p. 1458–1465, 2015.
- GAŁUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013.
- GANORKAR, S. B.; SHIRKHEDKAR, A. A. Design of experiments in liquid chromatography (HPLC) analysis of pharmaceuticals: Analytics, applications, implications and future prospects. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 36, n. 3, 2017.
- GARCÍA-VILLALBA, R. et al. Comparative metabolomic study of transgenic versus conventional soybean using capillary electrophoresis–time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1195, n. 1–2, p. 164–173, 2008.
- GIANNOCCARO, E; WANG, Ya-Jane; CHEN, P. Effects of solvent, temperature, time, solvent-to-sample ratio, sample size, and defatting on the extraction of soluble sugars in soybean. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, p. C59–C64, 2006.
- GRITTI, F.; GUIOCHON, G. Adsorption mechanisms and effect of temperature in reversed-phase liquid chromatography. Meaning of the classical Van't Hoff plot in chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 13, p. 4642–4653, 2006.
- GRIFFITH, A. P.; COLLISON, M. W. Improved methods for the extraction and analysis of isoflavones from soy-containing foods and nutritional supplements by reversed-phase high-performance liquid chromatography and liquid chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 913, n. 1–2, p. 397–413, 2001.
- HASSAN, H.; LIM, J. K.; HAMEED, B. H. Recent progress on biomass co-pyrolysis conversion into high-quality bio-oil. **Bioresource Technology**, v. 221, n. September, p. 645–655, 2016.
- HASHIMOTO K, MORIMOTO K, DOBSON S. World Health Organization. In: Acetonitrile Environmental Health Criteria 154. Geneva: World Health Organization; 1993.

HEINISCH, S.; ROCCA, J. L. Sense and nonsense of high-temperature liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 4, p. 642–658, 2009.

HOU, A. et al. Sugar variation in soybean seed assessed with a rapid extraction and quantification method. **International Journal of Agronomy**, v. 2009, 2009.

HUTCHINSON, J. P. et al. Investigation of polar organic solvents compatible with Corona Charged Aerosol Detection and their use for the determination of sugars by hydrophilic interaction liquid chromatography. **Analytica chimica acta**, v. 750, p. 199-206, 2012.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1), ICH, 2005.

IONASHIRO, M.; GIGANTE, A. CRISTINA; CAIRES, F. J. **Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial**. 2a. ed. Araraquara: Vesper, 2012.

IONASHIRO, M.; CAIRES, F. J.; GOMES, D. J. C. **Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial / calorimetria exploratória diferencial**. 2. ed. São Paulo: Giz, 2014. 192 p.

HSIEH, H. C.; KAO, T. H.; CHEN, B. H. A Fast HPLC Method for Analysis of Isoflavones in Soybean. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v. 27, n. 2, p. 315–324, 2004.

HUSAIN, G. M. et al. Pharmacodynamic Evaluation: Herbal Medicine. **Drug Discovery and Evaluation: Methods in Clinical Pharmacology**, p. 1–14, 2017.

HYMOWITZ, T.; COLLINS, F. I. Variability of Sugar Content in Seed of Glycine max (L.) Merrill and G. soja Sieb. and Zucc. 1. **Agronomy Journal**, v. 66, n. 2, p. 239–240, 1974.

HYÖTYLÄINEN, T. Critical evaluation of sample pretreatment techniques. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 394, n. 3, p. 743–758, 2009.

KAO, T. H.; CHEN, B. H. An improved method for determination of isoflavones in soybean powder by liquid chromatography. **Chromatographia**, v. 56, n. 7–8, p. 423–430, 2002.

KIM, J. K. et al. Isoflavones profiling of soybean [Glycine max (L.) Merrill] germplasms and their correlations with metabolic pathways. **Food Chemistry**, v. 153, p. 258–264, 2014.

KINGHORN, A. D. et al. The relevance of higher plants in lead compound discovery programs. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 6, p. 1539–1555, 2011.

KRAVANJA, Z.; VARBANOV, P. S.; KLEMEŠ, J. J. Recent advances in green energy and product productions, environmentally friendly, healthier and safer technologies and processes, CO₂ capturing, storage and recycling, and sustainability assessment in decision-making. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 17, n. 5, p. 1119–1126, 2015.

LANTE, A. et al. An ecofriendly procedure to extract isoflavones from soybean seeds. **Journal of Cleaner Production**, v. 170, p. 1102–1110, 2018.

LENARDÃO, E. J. et al. "Green chemistry": os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

- LEE, J. et al. Phytochemical constituents from the leaves of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. **Food Science and Biotechnology**, v. 17, n. 3, p. 578-586, 2008.
- LEE, S. et al. Isoflavones in Korean soybeans differing in seed coat and cotyledon color. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 2, p. 160-165, 2010.
- LEE, J. H. et al. Changes occurring in compositions and antioxidant properties of healthy soybean seeds [*Glycine max* (L.) Merr.] and soybean seeds diseased by *Phomopsis longicolla* and *Cercospora kikuchii* fungal pathogens. **Food Chemistry**, v. 185, p. 205–211, 2015.
- LEE, Y. H. et al. Rapid characterization of metabolites in soybean using ultra high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS) and screening for α -glucosidase inhibitory and anti. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 1, p. 277–291, 2018.
- LI, S. P.; ZHAO, J.; YANG, B. Strategies for quality control of Chinese medicines. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 4, p. 802–809, 2011.
- LI, Z. et al. Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of 12 cruciferous vegetables. **Molecules**, v. 23, n. 5, 2018.
- LOPES SILVA, D. A. et al. Life cycle assessment of the sugarcane bagasse electricity generation in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 32, p. 532–547, abr. 2014.
- LIU, Z. M. et al. A mild favorable effect of soy protein with isoflavones on body composition—a 6-month double-blind randomized placebo-controlled trial among Chinese postmenopausal women. **International journal of obesity**, v. 34, n. 2, p. 309-318, 2010.
- LUNDSTEDT, T. et al. Experimental design and optimization. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**, v. 42, n. 1-2, p. 3-40, 1998.
- MAJEED, R. et al. Bakuchiol derivatives as novel and potent cytotoxic agents: A report. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 55–67, 2012.
- MIELENZ, J. R.; BARDSLEY, J. S.; WYMAN, C. E. Fermentation of soybean hulls to ethanol while preserving protein value. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 14, p. 3532–3539, 2009.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (BR), Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da central de medicamentos**. Brasília: (DF); 2006. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia_no_sus.pdf>. Acesso em: 04 mar. 2021
- MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. **MS elabora Relação de Plantas Medicinais de interesse ao SUS**. Brasília: Agência Saúde, 2009. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2021.
- MOON, C. et al. Effect of blending ratio on combustion performance in blends of biomass and coals of different ranks. **Experimental Thermal and Fluid Science**, v. 47, p. 232–240, maio 2013.

MONTGOMERY D. C. **Design and Analysis of Experiments**. Chichester: John Wiley & Sons; 2017.

MOUSTAKAS, K.; PARMAXIDOU, P.; VAKALIS, S. Anaerobic digestion for energy production from agricultural biomass waste in Greece: Capacity assessment for the region of Thessaly. **Energy**, v. 191, 2020.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos-: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria**. Bookman Editora, 2010.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311–335, 2012.

NIAMNUY, C. et al. Evaluation of bioactive compounds and bioactivities of soybean dried by different methods and conditions. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 899–906, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.042>>.

OLIVES, A. I.; GONZÁLEZ-RUIZ, V.; MARTÍN, M. A. Sustainable and Eco-Friendly Alternatives for Liquid Chromatographic Analysis. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 5, n. 7, p. 5618–5634, 2017.

OLOFSSON, J.; BÖRJESSON, P. Residual biomass as resource—Life-cycle environmental impact of wastes in circular resource systems. **Journal of Cleaner Production**, v. 196, p. 997–1006, 2018.

PEÑALVO, J. L.; NURMI, T.; ADLERCREUTZ, H. A simplified HPLC method for total isoflavones in soy products. **Food Chemistry**, v. 87, n. 2, p. 297–305, 2004.

PENA-PEREIRA, F.; WOJNOWSKI, W.; TOBISZEWSKI, M. AGREE—Analytical GREEnness Metric Approach and Software. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 14, p. 10076–10082, 2020.

PEREIRA FILHO, E. R. Planejamento fatorial em química: maximizando a obtenção de resultados. **Edufscar: São Carlos**, 2015.

PIO, I. D. S. L. et al. Traditional knowledge and uses of medicinal plants by the inhabitants of the islands of the são francisco river, Brazil and preliminary analysis of raphiodon echinus (Lamiaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 1, p. 87–99, 2019.

PRAT, D. et al. CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. **Green Chemistry**, v. 18, n. 1, p. 288–296, 2015.

PRAT, D.; HAYLER, J.; WELLS, A. A survey of solvent selection guides. **Green Chemistry**, v. 16, n. 10, p. 4546–4551, 2014.

PUBLIC HEALTH ENGLAND (PHE). Compendium of Chemical Hazards: Methanol. Chilton: PHE Centre for Radiation, Chemical and Environmental Hazards; 2015. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/456293/Methanol_TO_PHE_260815.pdf Accessed 29 May 2020.

PYO, D.; YOO, J.; SURH, J. Comparison of supercritical fluid extraction and solvent extraction of isoflavones from soybeans. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies®**, v. 32, n. 7, p. 923–932, 2009.

QIAO, X. et al. Separation and detection of minor constituents in herbal medicines using a combination of heart-cutting and comprehensive two-dimensional liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1362, p. 157-167, 2014.

QIAO, Na. et al. Haemolytic activity and adjuvant effect of soyasaponins and some of their derivatives on the immune responses to ovalbumin in mice. **International immunopharmacology**, v. 18, n. 2, p. 333-339, 2014.

RODRIGUES, C. M.; RINALDO, D.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L. C.; MONTORO, P.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. High-performance Liquid Chromatographic Separation and Identification of Polyphenolic Compounds from the Infusion of *Davilla elliptica* St. Hill. **Phytochemical Analysis**, v. 19, p. 17-24, 2008.

ROSA, C. da; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 311–318, 2011.

ROUT, P. K.; NANNAWARE, A. Deepak; RAJASEKHARAN, Ram. **Process for chemical conversion of cellulose isolated from aromatic spent biomass to hydroxymethyl furfural**. U.S. Patent n. 9,199,956, 1 dez. 2015.

RUEDA-ORDÓÑEZ, Y. J.; TANNOUS, K. Drying and thermal decomposition kinetics of sugarcane straw by nonisothermal thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, v. 264, p. 131–139, 2018.

SANDRA, P. et al. Green chromatography (Part 1): introduction and liquid chromatography. 2010.

SAYED-AHMAD, B. et al. Effect of addition of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) on the quality of protein bread. **Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences**, v. 71, n. 6, p. 509–514, 2017.

SANTOS, L. S. et al. Chemotaxonomic markers of organic, natural, and genetically modified soybeans detected by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of radioanalytical and nuclear chemistry**, v. 269, n. 2, p. 505-509, 2006.

SECA, A. M. L.; PINTO, D. C. G. A. Plant secondary metabolites as anticancer agents: Successes in clinical trials and therapeutic application. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 1, 2018.

SHIM, Y. S. et al. Rapid method for the determination of 14 isoflavones in food using UHPLC coupled to photo diode array detection. **Food Chemistry**, v. 187, p. 391–397, 2015.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; DOLAN, J. W. Appendix I: Properties of HPLC solvents. **Introduction to Modern Liquid Chromatography**, p. 879-886, 2010.

SONG, Y. J.; PAIK, H. Y.; JOUNG, H. Soybean and soy isoflavone intake indicate a positive change in bone mineral density for 2 years in young Korean women. **Nutrition research**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 2008.

SOUZA, O. A. et al. Fingerprinting *Cynara scolymus* L. (Artichoke) by Means of a Green Statistically Developed HPLC-PAD Method. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 7, p. 1977–1985, 2018.

SUN, J. ming et al. Rapid HPLC Method for Determination of 12 Isoflavone Components in Soybean Seeds. **Agricultural Sciences in China**, v. 10, n. 1, p. 70–77, 2011.

SVETAZ, L. et al. Antifungal chalcones and new caffeic acid esters from *Zuccagnia punctata* acting against soybean infecting fungi. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3297-3300, 2004.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química nova**, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.

TISTAERT, C.; DEJAEGHER, B.; HEYDEN, Y. V. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 690, n. 2, p. 148–161, 2011.

TOBISZEWSKI, M.; NAMIEŚNIK, J.; PENA-PEREIRA, F. Environmental risk-based ranking of solvents using the combination of a multimedia model and multi-criteria decision analysis. **Green Chemistry**, v. 19, n. 4, p. 1034–1042, 2017.

TRAKA, C. K. et al. Effects of *Ocimum basilicum* and *Ruta chalepensis* hydrosols on *Aphis gossypii* and *Tetranychus urticae*. **Journal of Applied Entomology**, v. 142, n. 4, p. 413–420, 2018.

USDA (United States Department of Agriculture). World Agricultural Supply and Demand Estimates. Washington: USDA; 2019. <https://usda.library.cornell.edu/concern/publications/3t945q76s?locale=en#release-items>. Accessed 20 March 2021.

VANDER HEYDEN, Y. et al. Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 24, n. 5-6, p. 723-753, 2001.

VANHOENACKER, G.; SANDRA, P. Elevated temperature and temperature programming in conventional liquid chromatography - Fundamentals and applications. **Journal of Separation Science**, v. 29, n. 12, p. 1822–1835, 2006.

VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H.; KIM, H. K. Ethnopharmacology and systems biology: A perfect holistic match. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 53–56, 2005.

WANG, M. et al. Biogas production from chinese herb-extraction residues: Influence of biomass composition on methane yield. **BioResources**, v. 8, n. 3, p. 3732–3740, 2013.

WELCH, C. J. et al. Greening analytical chromatography. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 7, p. 667–680, 2010.

WESOŁOWSKI, M.; KONIECZYŃSKI, P. Thermoanalytical, chemical and principal component analysis of plant drugs. **International journal of pharmaceutics**, v. 262, n. 1-2, p. 29-37, 2003.

WINK, M. Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. **Medicines**, v. 2, n. 3, p. 251–286, 2015.

ZAFRA-GÓMEZ, A. et al. Improved sample treatment and chromatographic method for the determination of isoflavones in supplemented foods. **Food Chemistry**, v. 123, n. 3, p. 872–

877, 2010.

ZHELJAZKOV, V. D. et al. Dual Utilization of Medicinal and Aromatic Crops as Bioenergy Feedstocks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 33, p. 8744–8752, 2018.

ZHU, G. et al. The utilization of aromatic plant waste resource. **Advanced Materials Research**, v. 518–523, p. 3561–3565, 2012.