

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Pedro Ivo Palacio Leite

**EXTRAÇÃO VERDE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA CASCA E DA POLPA DO
BURITI (*Mauritia flexuosa* L.): AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E
ANTIBACTERIANA**

NATAL-RN
2020

PEDRO IVO PALACIO LEITE

**EXTRAÇÃO VERDE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA CASCA E DA POLPA
DO BURITI (*Mauritia flexuosa* L.): AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA**

Dissertação apresentada à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal do
Rio Grande do Norte, para obtenção do título
de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Canindé de Sousa Junior

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Ferrari

NATAL-RN

2020

Pedro Ivo Palacio Leite

**EXTRAÇÃO VERDE DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA CASCA E
DA POLPA DO BURITI (*Mauritia flexuosa* L.): AVALIAÇÃO DAS
ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA**

Banca Examinadora:



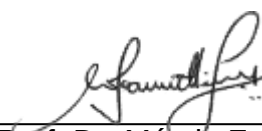
Prof. Dr. Francisco Canindé de Sousa Junior
Presidente – UFRN



Profa. Dra. Ana Lucia Figueiredo Porto
Examinador Externo – UFRPE



Prof. Dr. Everaldo Silvino dos Santos
Examinador Interno – UFRN



Prof. Dr. Márcio Ferrari
Coorientador – UFRN

Natal, 21 de julho de 2020

NATAL / RN
2020

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Leite, Pedro Ivo Palacio.

Extração verde de compostos bioativos da casca e da polpa do buriti (*Mauritia flexuosa* L.): avaliação das atividades antioxidante e antibacteriana / Pedro Ivo Palacio Leite. - 2020. 89f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Mestrado em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Francisco Canindé de Sousa Junior.

Coorientador: Márcio Ferrari.

1. Antioxidantes - Dissertação. 2. *Mauritia flexuosa* L (Buriti) - Dissertação. 3. Supramolecular - Dissertação. 4. Carotenoides - Dissertação. 5. Antibacteriano - Dissertação. I. Sousa Junior, Francisco Canindé de. II. Ferrari, Márcio. III. Título.

RN/UF/BS-CCS

CDU 678.048

Dedico este trabalho: A minha família,
Em especial minha mãe, a Deus por
Sempre me guiar em todos os desafios,
Ao prof. Francisco Canindé,
Sem o qual não teria sido possível.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Francisco Canindé, meu orientador, pela confiança de juntos desenvolvermos esse lindo trabalho, pela paciência, generosidade e pelo grande ser humano de luz na qual sempre tem a resolutividade para todas as questões, minha eterna gratidão.

Ao Dr. Carlos Eduardo, que me acolheu no Laboratório de Engenharia Bioquímica, sendo meus pés e mãos. Sempre foi resolutivo e estava sempre atento ao desenvolvimento do nosso projeto, minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Márcio Ferrari. Peça chave para o meu ingresso no mestrado e pelo acolhimento no Laboratório de Cosméticos e pela coorientação, minha eterna gratidão.

A Profa. Dra. Cristiane Fernandes, que me acolheu no estágio à docência e sempre esteve pronta a me ajudar no desenvolvimento do nosso trabalho.

A minha família, a base de minhas escolhas e sempre foram o grande motivo de sempre buscar crescer profissionalmente. Minha mãe, Rita; meus irmãos, Hercules, Robson, Wylla e Camila; Meus cunhados, Magaly, Suzana, João e Patrik; Meus sobrinhos, Arthur e Davi, motivo de saudade diária e os propulsores de energia para que eu não desanimasse.

As minhas amigas, Samara Maciel, Mayara Marques e Angêla, minhas companheiras de apartamento. Pela força, momentos de aflições divididas e pela dádiva de tê-las como amigas.

Aos amigos Laboratório de Cosméticos (LACOS). Por sempre estarem juntos na tentativa de crescimento profissional e o apoio incondicional na minha pesquisa. Especialmente a Stella e Samara, amigas que quero levar para toda vida.

Aos amigos, Francislan Gomes, Joeldo Ferreira, Álvaro Araújo, Erisvaldo e Júlia Targino. Vocês são a base da minha felicidade, sou grato a Deus por todos vocês como amigo/irmãos, sempre estão presente nas minhas decisões, angústias e alegrias.

Aos amigos do Laboratório de Bromatologia. Pelas discussões construtivas e pelo apoio em tempos difíceis durante os dois anos de mestrado. Em especial, Neyna, Sebastião, Cleidijane e Wendell.

Aos amigos do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB). As cabeças mais pensantes, inteligentes e resolutivas que já conheci. Em especial, Dr. Calos Eduardo, Waleska, Willyan, Sinara, Cleitiane, Júlia, Ana Laura e Vitor, que sempre contribuíram de forma excepcional e construtiva no desenvolvimento do meu grande sonho (mestrado).

A Universidade Regional do Cariri (URCA), em especial ao Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM), que contribuíram de forma significativa no progresso do estudo.

A Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF). Pela oportunidade de realizar o trabalho de mestrado e empenho em garantir um egresso de qualidade.

A coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil - (CAPES) – código de financiamento 001. Pelo auxílio financeiro que permitiu o bom desempenho e qualidade desse trabalho durante os dois anos de mestrado.

RESUMO

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.) é um fruto que fornece grandes quantidades de componentes bioativos como carotenoides e vitamina A, constituindo uma matéria-prima de grande potencial. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi extrair os compostos bioativos da casca e da polpa do buriti utilizando solventes verdes para avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana. Foram realizadas extrações da casca e da polpa do buriti, utilizando Solventes Eutéticos Profundos (DES), etanol e solvente supramolecular (SUPRAS). Além disso, o rendimento da extração de carotenoides com etanol foi avaliado pela técnica convencional e assistida por ultrassom. A concentração de carotenoides totais nos extratos foi avaliada por espectrofotometria, e a de compostos fenólicos totais e betacaroteno foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O desempenho da extração SUPRAS foi comparado com os resultados de extração com etanol utilizando a casca e polpa do buriti como matrizes. A extração de betacaroteno com SUPRAS apresentou rendimento de $5,82 \pm 0,05$ mg/g para casca e $26,7 \pm 0,02$ mg/g para a polpa. Para extração dos compostos fenólicos totais, os rendimentos foram de $32,1 \pm 1,2$ µg EAG/g para casca e $24,53 \pm 4,9$ µg EAG/g para a polpa. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante, com destaque para os obtidos com SUPRAS, que apresentaram EC₅₀ (concentração em que 50% dos radicais foram eliminados) para o sequestro do radical ABTS de 3,00 µg/mL para a casca e 0,84 µg/mL para a polpa. Estes extratos inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 4028). Além disso, quando associados aos antibióticos norfloxacino e gentamicina, os extratos apresentaram ação sinérgica contra cepas multiresistentes de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Assim, a extração dos compostos bioativos do buriti utilizando um solvente seguro, biocompatível, biodegradável e ambientalmente amigável como o SUPRAS, representa um enorme potencial para desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentos funcionais.

Palavras chave: *Mauritia flexuosa* L. Supramolecular. Solventes Eutéticos. Antioxidantes. Carotenoides. Ultrassom.

ABSTRACT

Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) is a fruit that provides large quantities of bioactive components such as carotenoids and vitamin A. Thus, this species represents a raw material of great potential. In this sense, the objective of the present study was to extract the bioactive compounds from the peel and pulp of the buriti fruit using green solvents to evaluate the antioxidant and antibacterial activities. Initially, extraction of the buriti peel and pulp was performed using deep eutectic solvents (DES), ethanol, and supramolecular solvent (SUPRAS). In addition, the yield of carotenoid extraction with ethanol was evaluated by the conventional and ultrasound-assisted technique. The concentration of total carotenoids in the extracts was evaluated by spectrophotometry, and the concentration of total phenolic compounds and beta-carotene was determined by high-efficiency liquid chromatography (HPLC). The performance of SUPRAS extraction was compared with the results of ethanol extraction using the peel and buriti pulp as matrices. Beta-carotene extraction with SUPRAS yielded 5.82 ± 0.05 mg/g for peel and 26.7 ± 0.02 mg/g for pulp. For total phenolic compounds, yields were 32.1 ± 1.2 µg GAE/g for peel and 24.53 ± 4.9 µg GAE/g for pulp. All extracts presented excellent antioxidant activity, emphasizing the extracts obtained with SUPRAS, which presented EC₅₀ (concentration required to obtain a 50% antioxidant effect) for the sequestration of the ABTS radical of 3.00 µg/mL for the peel and 0.84 µg/mL for the pulp. These extract inhibiting bacterial growth of *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) and *Enterococcus faecalis* (ATCC 4028). Moreover, when associated with norfloxacin and gentamicin antibiotics, the extracts showed synergistic action against multiresistant strains of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. Thus, the extraction of bioactive compounds from buriti using a safe, biocompatible, biodegradable and environmentally friendly solvent such as SUPRAS represents an enormous potential for the development of new pharmaceutical, cosmetic and functional food products.

Key words: *Mauritia flexuosa* L. Supramolecular. Eutectic solvents. Antioxidant. Carotenoids. Ultrasound.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Estrutura molecular de carotenos (β -caroteno) e xantofilas (luteína)	16
FIGURA 2	Diferentes classes de antioxidantes	17
FIGURA 3	Mecanismo antioxidante dos carotenoides por ação física	18
FIGURA 4	Mecanismo antioxidante dos carotenoides por ação química	18
FIGURA 5	Representação da formação dos solventes eutéticos profundos	23
FIGURA 6	<i>Frutos do buriti (Mauritia flexuosa L.)</i>	25
FIGURA 7	Imagem por microscopia óptica de solventes supramoleculares e frequência do tamanho de gotículas	46
FIGURA 8	Percentual de sequestro do radicais ABTS (A) e DPPH (B) em função da concentração extratos da casca e da polpa de buriti	49
FIGURA 9	Inibição do crescimento de micro-organismos ATCC frente aos extratos da casca e polpa do buriti	53
FIGURA10	Efeito modificador de antibióticos dos extratos supras da casca e da polpa de buriti contra bactérias multirresistentes	56

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1	Classificação Taxonômica de <i>Mauritia flexuosa</i> L.	25
QUADRO 2	Combinações utilizadas para obtenção dos solventes eutéticos profundos	30
TABELA 1	Rendimento da extração de carotenoides totais da casca do buriti (mg/g) frente aos quatro sistemas de Solventes Eutéticos Profundo (DES) em diferentes concentrações	39
TABELA 2	Rendimento da extração de carotenoides totais da polpa do buriti (mg/g) frente aos quatro sistemas de Solventes Eutéticos Profundo (DES) em diferentes concentrações	39
TABELA 3	Rendimento da extração de carotenoides totais (carotenoides totais mg/g) do extrato etanólico da casca e da polpa de buriti	42
TABELA 4	Concentração de betacaroteno, compostos fenólicos totais e fenólicos majoritários nos extratos da casca e polpa de buriti	48
TABELA 5	Valores de EC ₅₀ (µg/mL) para atividade antioxidante dos extratos da polpa e casca do buriti utilizando os métodos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido acético
ACN	Acetonitrila
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
BHT	2,6-bis(1,1-dimetiletil) -4-metilfenol
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DESS	<i>Deep Eutectic Solvents</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
EC ₅₀	Concentração efetiva em 50%
ECS	Extrato casca supra
EEC	Extrato etanolico da casca
EEP	Extrato etanolico da polpa
EHL	Equilíbrio hidrofílico lipofílico
EPS	Extrato polpa supra
GGPP	Difosfato de geranilgeranil
LIS	Líquidos iônicos
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SUPRAS	Solventes supramoleculares
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1	CAROTENOIDES	15
2.2.1	Atividade antioxidante	16
2.2	MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO DOS CAROTENÓIDES	19
2.3	SOLVENTES VERDES	21
2.4	BURITI	25
2.4.1	Atividade antimicrobiana	26
3	OBJETIVOS	28
3.1	OBJETIVO GERAL	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1	REAGENTES	29
4.2	OBTENÇÃO DOS FRUTOS DE BURITI	29
4.3	PREPARO DOS SOLVENTES E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS CAROTENOIDES	29
4.3.1	Preparo dos Solventes Eutéticos Profundos	29
4.3.2	Avaliação da extração dos carotenoides pelos solventes eutéticos profundos	30
4.3.3	Extração etanólica dos carotenoides totais	30
4.3.4	Obtenção do solvente supramolecular à base de ácido octanóico (SUPRAS) e Extração de carotenoides	31
4.4	DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES NOS SISTEMAS OBTIDOS	31
4.4.1	Carotenoides totais	31
4.4.2	Quantificação de betacaroteno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	32
4.5	AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NOS EXTRATOS	32
4.5.1	Compostos fenólicos totais	32
4.5.2	Análise de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência	33
4.6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DOS EXTRATOS COM MAIOR RENDIMENTO DE BETACAROTENO	33
4.6.1	Sequestro do radical DPPH	33
4.6.2	Sequestro do radical ABTS	34
4.7	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	34
4.7.1	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) utilizando cepas de referência	34
4.7.2	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e avaliação da atividade modificadora de antibióticos em cepas multirresistentes	35
4.7.2.1	Cepas bacterianas	35

4.7.2.2	<i>Preparo dos extratos</i>	35
4.7.2.3	<i>Determinação da concentração inibitória mínima e atividade moduladora de antibióticos</i>	36
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	EXTRAÇÃO DOS CAROTENOIDES UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS (DES)	38
5.2	OTIMIZAÇÃO DO RENDIMENTO DE CAROTENOIDES TOTAIS DA CASCA E POLPA DO BURITI VERSATILIZANDO SOLVENTE E TÉCNICAS	41
5.2.1	Extração de carotenoides totais da casca e polpa do buriti com etanol, assistida por ultrassom e banho termostático	41
5.2.2	Obtenção do solvente supramolecular (SUPRAS) e extração de carotenoides da casca e polpa do buriti	45
5.3	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i> DOS EXTRATOS	49
5.4	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS	51
6	CONCLUSÕES	57
	REFERÊNCIAS	58

1 INTRODUÇÃO

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.), planta popularmente conhecida como miriti, coqueiro-buriti e muritim, pertence à família *Aracaceae* e gênero *Mauritia*. Esta espécie apresenta origem amazônica, entretanto pode ser encontrada em várias regiões do Brasil. A árvore do buriti cresce em áreas alagadas e pode atingir até 35 metros de altura, com frutos medindo cerca de 5,0 centímetros de diâmetro (KOOLEN et al., 2013; PEZOTI et al., 2014).

O fruto do buriti é conhecido pela elevada concentração de carotenóides (MESQUITA; TEIXEIRA; SERVULO, 2017). Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis, polisoprenóides que são divididos em duas categorias: carotenos e xantofilas. Eles compartilham particularidades estruturais como uma longa cadeia de ligação dupla conjugada rica em elétrons, que confere a sua atividade antioxidante (CARRANCO JAUREGUI; CALVO CARRILLO; PÉREZ-GIL, 2011; LORDELO et al., 2010; PEREIRA; DAS GRAÇAS, 2012). Os carotenos caracterizam-se por apresentar uma cadeia longa de carbono e hidrogênio, já as xantofilas caracterizam-se por ter uma longa cadeia de carbonos, no entanto, diferencia-se dos demais, pela presença de derivados oxigenados de carotenos (DE ANDRADE et al., 2019; MARCHETTI et al., 2019).

Os carotenoides podem ser empregados como ativos em formulações cosméticas, com ação antienvhecimento por ter elevada atividade antioxidante, capaz de absorver a radiação UV, radicais livres e capturar espécies reativas de oxigênio (ROS), como o oxigênio singlete (CHEN et al., 2017). E ainda atuam na despigmentação e na atividade antiacne (ANUCIATO; ROCHA FILHO, 2012, MAYNE et al., 2013). Além disso, a literatura demonstra, que outros bioativos como, ácidos graxos (SPERANZA; RIBEIRO; MACEDO, 2016) e compostos fenólicos totais (NOBRE et al., 2018), presentes na polpa e casca do buriti, exercem atividade frente a diversos micro-organismos (KOOLEN et al., 2013).

Devido à sua natureza hidrofóbica, os carotenoides são convencionalmente extraídos com solventes orgânicos como hexano (CHEN et al., 2005), acetato de etila e metanol (GIUFFRIDA et al., 2013), conhecidos por sua toxicidade, alta volatilidade e inflamabilidade (LEE; ROW, 2016). Recentemente, os conceitos de química verde têm sido propostos para solucionar problemas em processos de

extração a partir do uso de solventes ambientalmente amigáveis (FARIAS; FÁVARO, 2011; GHANDI, 2014).

Os Solventes Eutéticos Profundos, ou do inglês *Deep Eutectic Solvents* (DES), compõem uma classe de solventes verdes com grande potencial de aplicação na indústria farmacêutica, devido a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de serem atóxicos quando da seleção adequada dos seus precursores (COSTA, 2016; GARCIA et al., 2016). É válido ainda, destacar, o emprego dos solventes supramoleculares (SUPRAS), solventes de estrutura anfifílica que podem ser obtidos de forma simples. Nos processos extrativos, os SUPRAS são geralmente biocompatíveis e podem exercer um papel importante na estabilidade dos bioativos extraídos. Além disso, destacam-se como vantagens a característica de automontagem através da modulação das estruturas moleculares e baixa volatilidade e inflamabilidade (MARTINS et al., 2019; ZHANG et al., 2019).

Esse estudo, buscou avaliar a capacidade de solventes verdes (DES e SUPRAS) em extrair carotenoides e compostos fenólicos da polpa e da casca do buriti, para investigar as atividades antioxidantes e antibacteriana dos extratos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CAROTENOIDES

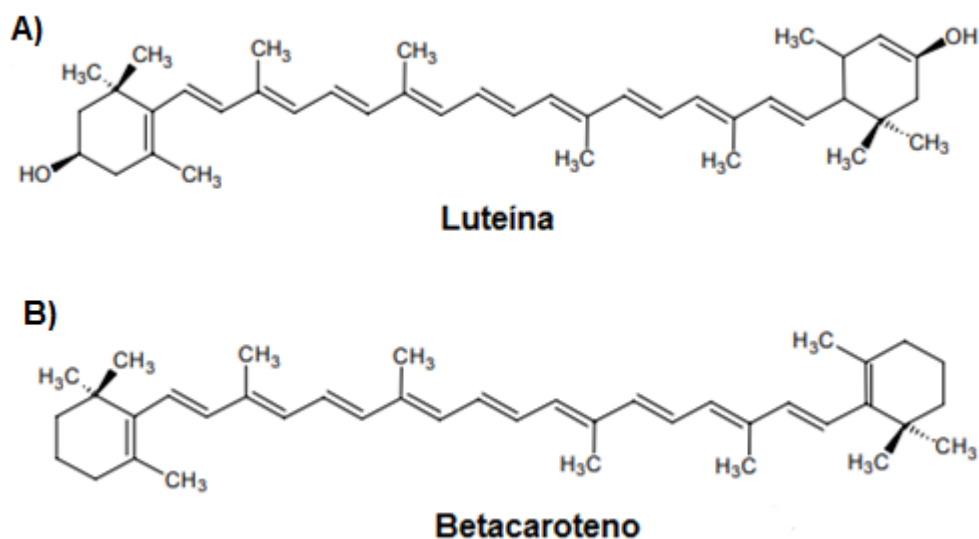
Os carotenoides são moléculas, isoprenoides, lipossolúveis e tetraterpênicas, e se caracterizam por ser um pigmento fotossintético de plantas, bactérias e outros (BADEJO, 2018; PANGESTUTI; SIAHAAN; KIM, 2018; VILA et al., 2019).

De modo geral, os carotenoides vegetais são sintetizados e armazenados em células especializadas, como os cromoplastos. Os carotenoides são sintetizados a partir de três moléculas de difosfato de isopentenil e seu isômero dimetilalil difosfato, gerando o difosfato de geranilgeranil (GGPP). A condensação de duas moléculas de GGPP, é catalisada pela enzima fitoeno sintase, que dá origem a principal molécula da via sintética dos carotenoides, o fitoeno, molécula de 40 carbonos, que por sua vez sofre isomerização e dessaturação, para formação do licopeno, o mesmo trata-se de um carotenoide padrão para o desenvolvimento da via biosintética (YUAN et al., 2015). Os carotenoides desempenham papéis fundamentais em células vegetais, como estabilização de membranas, captação de luz através de seus grupos cromóforos e proteção fotooxidativa por meio da dissipação de luz (RODRIGUEZ; RODRIGUEZ-AMAYA, 2007; STANLEY; YUANRUIZ, 2019).

Os carotenoides são divididos em dois grandes grupos: I) carotenos, que caracterizam-se por uma cadeia longa de carbono e hidrogênio, podendo sofrer ciclização nas extremidades da molécula, e, II) xantofilas, grupo que também possui uma longa cadeia de carbonos contendo derivados oxigenados de carotenos (DE ANDRADE et al., 2019; MARCHETTI et al., 2019). A divisão das classes, dar-se principalmente pela designação da via sintética dos isoprenoides (VILA et al., 2019).

A ciclização do licopeno é o momento crucial da via, pois o mesmo gera uma exímia ramificação, para a formação do primeiro grupo dos carotenoides (CAZZONELLI et al., 2009; RUIZ-SOLA; RODRÍGUEZ-CONCEPCION, 2012). A saber, os carotenos, que podem ser principalmente carotenos com um anel β e um anel ϵ (α -caroteno) ou com dois anéis β (β -caroteno). O outro grupo, denominado xantofilas, são moléculas derivadas dos carotenos, após sofrerem hidroxilação, é o caso da luteína (Figura 1 (A)) gerada a partir do α -caroteno, e a zeaxantina, a partir do β -caroteno (Figura 1 (B)) (LLORENTE et al., 2017; RUIZ-SOLA; RODRÍGUEZ-CONCEPCION, 2012; SUN et al., 2018).

Figura 1 - Estrutura molecular de carotenos (β -caroteno) e xantofilas (luteína).



Fonte: Adaptado de LINS, 2006

Destaca-se a presença desses fitocompostos em vegetais que apresentam cor vermelha, como o tomate, indicando a presença majoritária de licopeno (RONEN et al., 1999), cor amarela, como é o exemplo do milho, indicando a presença de luteína e zeaxantina (CARDOSO et al., 2009), e cor laranja pela presença de betacaroteno, como no buriti (CUNHA et al., 2012).

O betacaroteno é o principal carotenoide presente na dieta humana e que exerce atividade pró vitamina A (ELVIRA-TORALES; GARCÍA-ALONSO; PERIAGO-CASTON, 2019). Logo, desempenha atividades extremamente relevantes frente às espécies reativas de oxigênio (OLESZKIEWICZ et al., 2018). Eritemas induzidos a partir de simulador solar diminuíram significativamente após 8 semanas, quando foram administradas doses de 25 mg/dia de betacaroteno por 12 semanas (BIESALSKI et al., 1996). Outro estudo mostrou que a suplementação com 30 mg de betacaroteno durante 10 semanas promoveu uma pequena proteção contra radiação solar (STAHL et al., 2000).

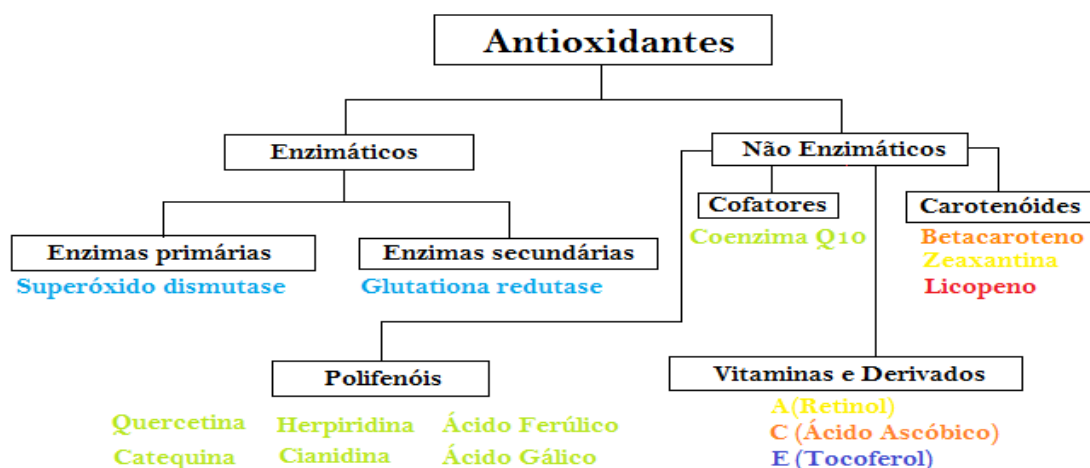
2.1.1 Atividade antioxidante

Os antioxidantes são moléculas consideradas estáveis, que através da doação de elétrons estabilizam radicais livres, reduzindo as injúrias a nível molecular. Além disso, sabe-se que os antioxidantes podem atuar por diversos

mecanismos como sequestro de radicais livres, doação de hidrogênio, decomposição de peróxidos, inibindo o oxigênio singlete e ação de enzimas (ALI et al., 2020).

Entende-se que moléculas antioxidantes são ativas contra danos oxidativos, principalmente pela eliminação, retardo ou diminuição de radicais livres. Ao passo que essa cascata dos reativos é interrompida, moléculas que desempenham papéis fundamentais de proteção, são resguardadas (LOBO et al., 2010). A Figura 2 mostra as diferentes classes de antioxidantes.

Figura 2 - Diferentes classes de antioxidantes.



Fonte: Adaptado de CAROCHO E FERREIRA, 2013.

Os seres humanos são incapazes biologicamente de sintetizar o betacaroteno e, por isso, este composto deve ser fornecido pela alimentação (BOGACZ-RADOMSKA; HARASYM, 2018). Estudos apontam que a atividade antioxidante dos carotenoides pode auxiliar na redução de câncer de pele e retardo no processo de envelhecimento (KIM et al., 2019; SCHWARTZ et al., 2016).

Os principais mecanismos de ação antioxidante dos carotenoides, podem ser de ação física e química. O mecanismo de ação física envolve a transferência de energia, em que o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) transfere sua excitação para a molécula de carotenoide, com a formação oxigênio triplete ($^3\text{O}_2$) - uma molécula não reativa - e carotenoide triplete. Em seguida, as interações rotacionais e vibracionais regeneram a molécula de carotenoide (RAMEL et al., 2012). Esse mecanismo é ilustrado na Figura 3.

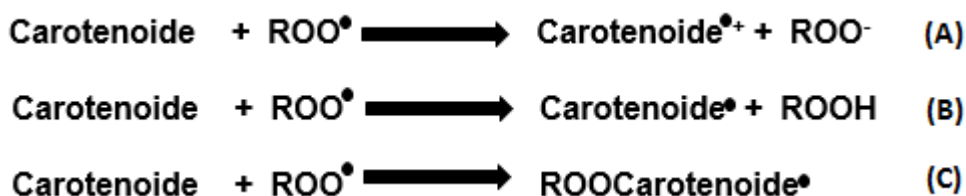
Figura 3 – Mecanismo antioxidante dos carotenoides por ação física.



Fonte: Adaptado de KRINSKY, 1989.

A atividade antioxidante por ação química envolve três mecanismos: O primeiro ocorre pela oxidação da molécula de betacaroteno por um radical de alto potencial redox, com a formação do radical cátion (A); O segundo, acontece pela remoção de um átomo de hidrogênio da molécula de carotenoide, formando um radical neutro (B), e o terceiro, ocorre pela adição de um radical à molécula de carotenoide, formando o radical aduto (C). Os três mecanismos são ilustrados na Figura 4.

Figura 4 – Mecanismo antioxidante dos carotenoides por ação química.



Fonte: Adaptado de EL-AGAMEY et al., 2004.

Sabe-se que os carotenoides possuem um importante papel em formulações cosméticas, como: 1) antioxidante, pelo sequestro de radicais livres, 2) prevenção do envelhecimento cutâneo, através do estímulo a síntese de colágeno e elastina e inibição da elastase, que degrada o colágeno e elastina, 3) despigmentação, pela redução do tamanho de melanócitos e níveis de melanina e, 4) antiacne, diminuindo a oleosidade por normalização da função de glândulas sebáceas (FRASER; BRAMLEY, 2004; KALWAT, 2018).

O estudo de Schalka et al. (2017), com uso de compostos nutracêuticos contendo licopeno e luteína nas concentrações de 0,065 mg/mL demonstrou excelentes resultados no aumento da síntese de elastina. O mesmo estudo mostrou

que as concentrações de 0,0163 mg/mL dos compostos aumentaram os níveis de colágeno em cultura de fibroblastos humanos. Palombo et al., (2007), demonstraram os efeitos benéficos a longo prazo do uso tópico e por via oral de 5 mg de luteína e 0,03 mg de zeaxantina em humanos, com aumento da elasticidade da pele, após a quarta semana de tratamento combinado em relação ao placebo.

Os carotenoides apresentam atividade antioxidante variável, além dos mecanismos descrito acima. As xantofilas, consideradas polares quando em comparação aos carotenos, podem atuar na bicamada lipídica, alterando a permeabilidade e reduzindo a difusão de espécies reativas de oxigênio (MESQUITA; TEIXEIRA; SERVULO, 2017).

2.2 MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO DOS CAROTENÓIDES

Nos últimos anos, tem havido um grande esforço para o desenvolvimento de novos métodos de extração de carotenoides de matrizes vegetais. Entretanto, a sua recuperação de matrizes complexas continua baixa, já que diversas barreiras físicas e químicas presentes na matriz vegetal impedem a transferência de massa de carotenoides durante extração. Além disso, a degradação oxidativa dos carotenoides limita a exposição ao excesso de calor, luz, ácidos e longos períodos de extração (SAINI; KEUM, 2018). Ao inserir a combinação dos descritores “ultrasound” e “carotenoids”, e “Soxhlet” e “carotenoids” na base de dados Scopus, limitando as produções dos últimos 10 anos (2010-2020), verificou-se a publicação de 276 artigos com ultrassom e 89 artigos com Soxhlet, demonstrando o interesse da comunidade científica por métodos não tradicionais de extração.

Dessa forma, o avanço em tecnologias para recuperação desses bioativos tem sido intensificada, que podem ser desenvolvidas por processos químicos, físicos ou mecânicos (WANG; WELLER, 2006). Convencionalmente as técnicas clássicas são as mais utilizadas nos processos de recuperação, geralmente escolhe-se um solvente, na qual, a depender do biotativo de interesse, são submetidos a temperaturas relativamente altas com ou sem agitação (TAKAHASHI et al., 2006).

Os métodos clássicos são bem vantajosos quando se diz respeito à obtenção de bioativos em altos rendimentos, além de serem considerados relativamente simples (MAMIDIPALLY et al., 2004). No entanto, as desvantagens se sobrepõem as vantagens, principalmente quando se trata de degradação de bioativos em

elevadas temperaturas, a necessidade de uso de solventes orgânicos e uma grande demanda de tempo, que pode acarretar em um alto consumo de energia, além da demanda operacional (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014).

As principais técnicas clássicas usadas na recuperação de carotenoides, são: Soxhlet, agitação, homogeneização com agitação e extração por centrífuga (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014). O Soxhlet é o principal paradigma de desempenho quando comparado a outros métodos para extração sólido-líquido, nesta técnica a matriz sólida é banhada por várias vezes com o solvente, até a evaporação total do solvente e obtenção do extrato concentrado (CRAVOTTO et al., 2011; JENSEN, 2007; NAVIGLIO et al., 2007).

O método de agitação e ou homogeneização com agitação, é o método comumente usado pelas indústrias, neste método a matriz vegetal é colocada em contato com o solvente e agitada com ou sem homogeneização por um determinado tempo. Em seguida, o solvente é deixado em contato com a matriz por vários dias, seguido da etapa de filtração ou evaporação, para remoção do solvente (SOQUETTA; TERRA; BASTOS, 2018; WANG; WELLER, 2006).

O método por centrifugação, permite que haja separação de fases pela força centrífuga. Uma fase pode conter a biomassa e a outra contém os bioativos de interesse, sendo necessário uma etapa de filtração, para obtenção da fase de interesse (PRADO; VEGGI; MEIRELES, 2014).

Outros métodos não convencionais para extração de bioativos, considerados verdes, têm sido largamente utilizados, apresentando principais vantagens como tempo reduzido, uso de baixa quantidade de solventes e altos rendimentos, que sobrepõem as técnicas clássicas (RODRÍGUEZ-PÉREZ et al., 2015).

A utilização de extração por fluido supercrítico, tem sido umas das principais técnicas não convencionais utilizadas para extração de compostos apolares como carotenoides (HERRERO et al., 2013). As extrações realizadas por este método, são consideradas rápidas, seletivas e não requerem purificações adicionais. Além disso, esta técnica pode ser associada a métodos cromatográficos, como cromatografia gasosa (OROIAN; ESCRICHE, 2015).

Outra técnica comumente usada, é a extração assistida por ultrassom, largamente utilizada para a maioria das matrizes vegetais. Nesta técnica os processos de cavitação atribuídos às ondas sonoras, que podem variar de 20 kHz a 100 MHz, podem otimizar o processo extrativo, causando ruptura nas células

vegetais, aumentar o processo de transferência de massa da matriz para o solvente e, conseqüentemente, o rendimento da extração (AZMIR et al., 2013; ROSELLÓ-SOTO et al., 2015).

A extração assistida por microondas, tem sido largamente utilizada para obtenção de compostos orgânicos, antioxidantes, pigmentos e óleos essenciais (SOQUETTA; TERRA; BASTOS, 2018). Nesta técnica, o tempo de extração pode ser reduzido, com o aumento de rendimento e melhor pureza dos compostos, quando comparado com métodos de aquecimento convencionais (ANGIOLILLO et al., 2015). Isso ocorre pelas microondas na faixa de 300 MHz a 300 GHz, que favorecem a penetração do solvente na matriz sólida (LI et al., 2013).

2.3 SOLVENTES VERDES

Além de técnicas consideradas verdes ou seguras, a compreensão quanto a diminuição da utilização ou até mesmo a substituição de solventes orgânicos nos laboratórios de pesquisa e indústrias, por solventes verdes, já é uma realidade. No entanto, é necessário cautela antes de definir o que é um solvente verde (HÄCKL; KUNZ, 2018).

Doze princípios considerados verdes foram estabelecidos devido à preocupação no uso de produtos químicos, que geram produtos de degradação altamente prejudiciais ao meio ambiente e aos manipuladores. De acordo com Anastas e Warner (1998), são eles: **1. Prevenção.** Evitar a geração de resíduo é melhor do que tratá-lo após sua produção. **2. Economia de átomos.** Maximizar a incorporação de todos os átomos dos materiais de partida no produto final. **3. Síntese de produtos menos perigosos.** Quando viável, a síntese de um produto químico deve utilizar e gerar substâncias que possuam pouca ou nenhuma toxicidade à saúde humana e ao meio ambiente. **4. Planejamento de produtos seguros.** O emprego de produto químico deve ser planejado de modo que realize a função desejada e ao mesmo tempo não seja tóxico. **5. Solventes e auxiliares mais seguros.** O uso de substâncias auxiliares (solventes, agentes de separação, etc.) deve ser descontinuado sempre que possível e, quando utilizadas, devem ser inócuas. **6. Busca pela eficiência de energia.** A utilização de energia pelos processos químicos deve ser minimizada. **7. Uso de fontes renováveis de matéria-prima.** A utilização de matérias-primas renováveis deve ser escolhida. **8. Evitar a**

formação de derivados. A derivatização desnecessária deve ser minimizada ou, se possível, evitada, porque estas etapas requerem reagentes adicionais e podem gerar resíduos. **9. Catálise.** Reagentes catalíticos (tão seletivos quanto possível) são melhores que reagentes estequiométricos. **10. Planejamento para a degradação.** Os produtos químicos precisam ser planejados de tal modo que, ao final de sua função, se fragmentem em produtos de degradação inócuos e não persistam no ambiente. **11. Análise em tempo real para a prevenção da poluição.** É preciso que haja desenvolvimento futuro de metodologias analíticas que viabilizem um monitoramento e controle dentro do processo, em tempo real, antes da formação de substâncias nocivas. **12. Química intrinsecamente segura para a prevenção de acidentes.** As substâncias, bem como a maneira pela qual uma substância é utilizada em um processo químico, devem ser escolhidas a fim de minimizar o potencial para acidentes químicos, incluindo vazamentos, explosões e incêndios (EARLE et al., 2004; PAIVA et al., 2014).

Nesse sentido, um novo método, desenvolvido por Abbot et al. (2003), a saber, os solventes eutéticos profundos (DESs), e que tem dado grande contribuição ao desenvolvimento da “pesquisa verde”, esse tema tem sido discutido desde 1991, baseado na sustentabilidade e desenvolvimento, e está cada vez mais presente, por garantir uma pesquisa de qualidade, respeitando critérios ambientais (FU et al., 2019; LI et al., 2019).

Os DESs podem ser definidos, como misturas de compostos puros na qual a temperatura do ponto eutético seja menor de que uma mistura líquida ideal (MARTINS et al., 2019; NAZZAL et al., 2002). Estes solventes, em sua grande maioria, apresentam alta biocompatibilidade, auto rendimento nas extrações, atoxicidade e baixo custo, sendo considerados ambientalmente favoráveis (THONGSAW et al., 2019).

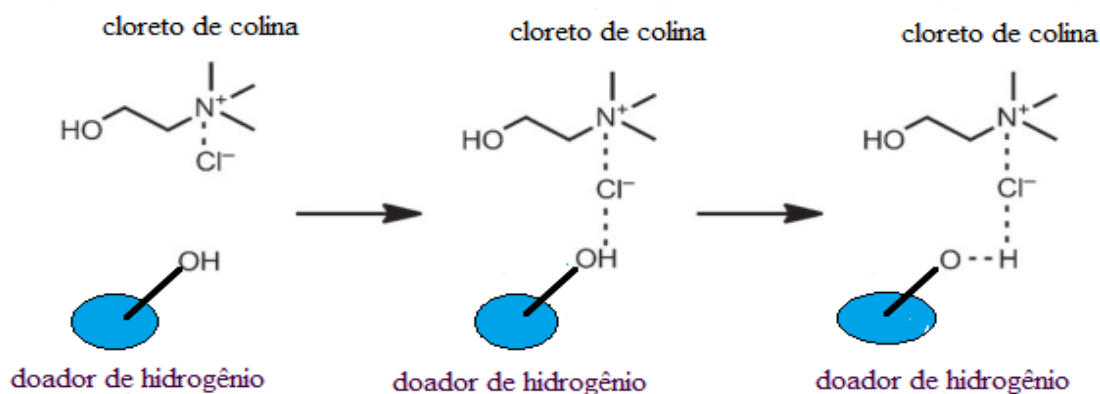
Os DESs apresentam vantagens desde a forma de obtenção, que é relativamente simples, até o seu potencial para aplicação em diversas áreas, como na síntese, eletroquímica, nanomateriais, bioquímica, análise e extração (TANG; ROW, 2013; ZHANG et al., 2012). Sua capacidade como agente extrativo, pode ser relacionada com as propriedades dissolutivas, explicadas pela capacidade de doar e aceitar prótons e elétrons, e a sua consequente capacidade de formar ligações de hidrogênio (PAIVA et al., 2014; SMITH; ABBOTT; RYDER, 2014).

Vários estudos já relatam o potencial dos DESs em extração de bioativos. Extrações de proteínas da casca da romã realizadas com DESs apresentaram rendimentos superiores a 20 mg/g quando comparado à extrações realizadas com líquido pressurizado (9 mg/g) (HERNÁNDEZ-CORROTO et al., 2020). Extrações de fenólicos totais de resíduos da cebola com DESs demonstraram maiores rendimentos quando comparado a outras extrações verdes (STEFU et al., 2019). Assim, o uso de DESs permite um bom desempenho nos diferentes processos de extração e respeita critérios da "química verde" a baixo custo (PENA-PEREIRA; NAMIEŚNIK, 2014).

As literaturas têm demonstrado o grande potencial do cloreto de colina como um aceitador de pontes de hidrogênio e o etilenoglicol, sorbitol, e glicerol, como doadores de ligação de hidrogênio. A mistura desses componentes sólidos, podem se tornar líquidos estáveis a temperatura ambiente. Esse fato é atribuído à interação entre o doador de ligação de hidrogênio com o ânion, gerando um íon não simétrico maior, deixando o ponto de fusão da mistura menor que o ponto de fusão dos componentes individuais (FARAJI, 2019; LI et al., 2019).

Para síntese dos DESs, é necessário que haja um sal de amônio quaternário, no qual o hidrogênio esteja disponível para doação, e sais orgânicos, hábeis a captar o hidrogênio, misturados a uma temperatura previamente definida (RUIZ-OLLES et al., 2019; TUZEN; NAEEMULLAH, 2019). Uma importante característica dos DESs é a grande redução no ponto de fusão em relação ao ponto de fusão dos seus precursores, tornando-os líquidos, mesmo em baixas temperaturas (PANG et al., 2012). A Figura 5, representa a ligação de uma molécula doadora de pontes de hidrogênio e outra aceptora de pontes de hidrogênio, na formação de um DESs.

Figura 5 - Representação da formação dos solventes eutéticos profundos.



Fonte: Adaptado de COSTA, 2016.

Uma outra classe de solventes verdes utilizados em processos extrativos são os solventes supramoleculares (SUPRAS), ou também conhecidos como técnica de ponto de nuvem. São líquidos nano-estruturados de caráter anfifílico, formados por processo de auto montagem a partir de coacervação, dando origem a estruturas tridimensionais, e em um segundo momento, sua imiscibilidade com a água produz grandes agregados moleculares, daí a formação dos SUPRAS (ACCIONI, et al., 2018).

No processo conhecido como auto montagem, os SUPRAS são formados de forma espontânea, quando elementos da formulação interagem entre si, constituindo um equilíbrio de interações atraentes e repulsivas, que podem ser interações hidrofóbicas e de Coulomb ou ligações de hidrogênio, em seguida o surgimento dos agregados anfifílicos é denotada pela separação de fase líquido-líquido pelo processo de coacervação, dando origem aos SUPRAS (REZAEI; YAMINI; MORADI, 2014).

As principais vantagens do uso dos SUPRAS estão relacionadas às suas características intrínsecas, por serem não voláteis, não inflamáveis, capacidade de automontagem, estrutura anfifílica, controle de suas propriedades através da modificação dos grupos apolares ou polares, propriedades superiores de solvatação para compostos orgânicos e inorgânicos, e força multiligante pelos agregados, que facilita a ligação ao soluto (BALLESTEROS-GÓMEZ et al., 2019).

2.4 BURITI

O buriti (*Mauritia flexuosa* L.), é um fruto popularmente conhecido como miriti, coqueiro-buriti e muritim, que apresenta ampla distribuição territorial. A palmeira é muito utilizada em construções e produções artesanais. Além disso, possui alta densidade populacional e grande diversidade genética (ACEVEDO-QUINTERO; ZAMORA-ABREGO, 2016; LEVIS et al., 2017; SANDER et al., 2018).

Esta espécie está inclusa na família de palmeiras *Arecaceae*, do gênero *Mauritia*, a classificação taxonômica é mostrada no Quadro 1. Esta espécie é considerada a mais importante entre as 11 existentes no Brasil, denotada como “árvores da vida”, pois dela tudo se aproveita. Esta árvore produz frutos entre o mês

de dezembro e junho, variando de 2000 a 6000 frutos por palmeira (FAUSTINO PEREIRA et al., 2018; PANTOJA et al., 2019).

Quadro 1 - Classificação Taxonômica de *Mauritia flexuosa* L.

Reino:	Plantae
Divisão:	Magnoliophyta
Classe:	Liliopsida
Ordem:	Arecales
Família:	Arecaceae
Gênero:	<i>Mauritia</i>
Espécie:	<i>Mauritia flexuosa</i> L.

Fonte: Adaptado de SOARES et al., 2014

O buriti, como apresentado na Figura 6, trata-se de um fruto elíptico, o qual a casca, polpa, fibra e semente apresentam em média as massas de 11,08 g (22,07%), 12,80 g (24,25%), 10,49 g (21,03%) e 16,86 g (32,65%), respectivamente. O fruto possui um epicarpo avermelhado e o mesocarpo alaranjado, cores características da presença de bioativos, como os carotenoides. Além disso, são frutos comestíveis, muito usados para produção de polpas, farinhas e doces (BARBOSA; LIMA; MOURÃO-JUNIOR, 2010; NONATO et al., 2018).

Figura 6 - Frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L.).



Fonte: O autor

O buriti é amplamente utilizado pela comunidade indígena como alimento, apresentado em torno de 3,4% de proteínas, 51,0% de lipídeos e 31,0% de carboidratos (CARNEIRO; CARNEIRO, 2011). O buriti (polpa) é considerado até então o fruto com maior fonte de betacaroteno no Brasil. A polpa do fruto buriti,

assim como o seu óleo, fornecem quantidades de carotenóides e vitamina A, em níveis superiores a todos os frutos até então estudados, produzindo uma quantidade 20 vezes superior a cenoura (AQUINO et al., 2012).

O buriti representa um grande potencial econômico para exploração sustentável da floresta amazônica, e sua aplicação em formulações cosméticas tem crescido, devido à presença rica de fitocompostos antioxidantes (ZANATTA et al., 2008). O óleo de buriti, que é extraído da polpa do fruto, tem despertado o interesse da indústria de cosméticos, devido a sua capacidade de fornecer compostos quimicamente ativos, como clorofila, carotenoides e outros. Dessa forma, a utilidade do óleo na cosmética tem sido empregado na formulação de fotoprotetores, por sua capacidade antioxidante, evitando danos causados pelos raios UV (BATISTA et al., 2012; DE OLIVEIRA; ORLANDA, 2017; FERREIRA et al., 2017; PEREIRA-FREIRE et al., 2018; RODRIGUES et al., 2018).

2.4.1 Atividade antimicrobiana

Os fármacos antimicrobianos são moléculas capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias (TANG; APISARNTHANARAK; HSU, 2014). Devido à diversidade química, os produtos naturais, sejam compostos isolados ou extratos, oferecem grande potencial para o desenvolvimento de medicamentos e aditivos, como antimicrobianos (KLANČNIK et al., 2010). Nos vegetais, a atividade antimicrobiana está frequentemente associada ao teor de metabólitos secundários (SILVA et al., 2015). No entanto, durante décadas, a atividade antimicrobiana de plantas e extratos de origem vegetal têm sido pouco investigada (TENORIO et al., 2016).

A necessidade no desenvolvimento de ativos antimicrobianos perpassa por um grave problema de saúde pública mundial, a resistência antimicrobiana bacteriana, que se agravará com o passar do tempo, devido ao lento desenvolvimento de antimicrobianos e uma crescente diversidade de mecanismos de resistência bacteriana (ROCHA et al., 2015). Os mecanismos de resistência estão relacionados com modificação ou destruição enzimática dos antibióticos, redução da permeabilidade celular, bombas de efluxo e alterações nas moléculas alvo (LOUREIRO et al., 2016).

Recentemente, estudos mostraram um crescente número de infecções causadas por bactérias resistentes, responsáveis por infecções hospitalares (VIEGAS et al., 2010). Da Silva et al. (2013), analisando mais de 300 amostras mostraram que metade delas continham linhagens multirresistentes de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Além disso, embora usualmente *Staphylococcus aureus* seja encontrada na pele de pessoas saudáveis, esse micro-organismo pode eventualmente causar graves doenças, destacando-se a incidência de resistência a antimicrobianos envolvendo *Staphylococcus aureus* (DA COSTA et al., 2008).

Nesse aspecto, os produtos de origem vegetal tem sido um alvo de grande interesse, na tentativa de sanar a problemática acima, pois em sua maioria possuem atividade antimicrobiana, além de propriedades modificadoras a resistência de alguns antimicrobianos já existentes (COUTINHO et al., 2012).

Dessa forma, vários estudos, utilizando extratos, frações e compostos isolados do fruto do buriti contra cepas bacterianas e fúngicas foram reportados pela literatura (KOOLEN et al., 2013; LEÃO et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2016). Batista et al. (2012), avaliando a atividade antibacteriana do óleo do buriti, contra cepas bacterianas pelo método de disco-difusão, mostraram que *B. subtilis*, *K. pneumoniae* e *S. aureus* foram sensíveis ao óleo. Koolen et al. (2012), isolaram seis compostos alcaloides do fruto do buriti, sendo que um deles, glandicolina B, que apresentou atividades antibacterianas relevantes, na concentração de 100 µg/mL frente a *S. aureus*, *Micrococcus luteus* e *E. coli*. Além disso, Koolen et al. (2013) demonstraram atividade antibacteriana significativa contra *S. aureus* e *E. faecalis* utilizando triterpeno isolado do buriti, na concentração de 50,8 µM.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Extrair compostos bioativos da casca e da polpa do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) utilizando solventes verdes e avaliar suas atividades antioxidante e antibacteriana.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Sintetizar solventes eutéticos profundos (DESS) utilizando cloreto de colina comoceptor de pontes de hidrogênio e glicerol, xilitol, PEG 400 e etilenoglicol como doadores de pontes de hidrogênios;
- Sintetizar o solvente supramolecular a base de ácido octanóico;
- Avaliar a eficiência dos sistemas DES/etanol, etanol e solvente supramolecular na extração de carotenoides da casca e polpa do buriti;
- Determinar a concentração de betacaroteno e componentes fenólicos no melhor sistema de extração;
- Investigar as propriedades antioxidantes e antibacteriana no melhor sistema de extração.
- Investigar as propriedades potencializadoras dos antibióticos aminoglicosídeos e fluoroquinolonas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 REAGENTES

Betacaroteno, ácido octanóico, ácido gálico, catequina, quercetina, ácido elágico, eugenol, diclorometano, metanol, acetonitrila, ácido acético, ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), BHT (2,6-bis(1,1-dimetiletil) - 4-metilfenol) e resazurina sódica foram adquiridos pela Sigma-Aldrich (MO, USA). Todos os outros reagentes utilizados possuíam grau analítico.

4.2 OBTENÇÃO DOS FRUTOS DE BURITI

Os frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* L) foram obtidos da fazenda Lua Clara, situada no município de Marabá-PA (5°42'32.7"S e 49°55'46.0"W). Os frutos foram transportados sob refrigeração ao Laboratório de Bromatologia do Departamento de Farmácia, na Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Inicialmente os frutos foram imersos em água. Em seguida, o fruto foi despolpado usando espátulas, e as cascas e polpa do buriti foram submetidas a secagem em estufa com circulação e renovação de ar (Modelo TE-394/I, TECNAL) a 50 °C por 6 h. O material seco foi triturado em moinho de facas (Moinho tipo Willye TE-680, TECNAL) e armazenado sob refrigeração (4 °C). O projeto foi cadastrado junto ao Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o n. AF2F8C9.

4.3 PREPARO DOS SOLVENTES E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DOS CAROTENOIDES

4.3.1 Preparo dos Solventes Eutéticos Profundos

Os DESSs foram sintetizados pelo método do aquecimento, previamente descrito por LI et al. (2016). A mistura eutética consistiu em um aceptor de pontes de hidrogênio (cloreto de colina) e um ou mais doador de pontes de hidrogênio (etilenoglicol, glicerol, glicerol/xilitol e glicerol/PEG 400) na razão molar aceptor/doador 1:2 e 1:2:0,5 (Quadro 2). As misturas foram agitadas a 60 °C em

banho maria (Banho termostatizado TE-184, TECNAL) até formação de um líquido claro e uniforme.

Quadro 2 - Combinações utilizadas para obtenção dos solventes eutéticos profundos.

Abreviações	Aceptor de pontes de hidrogênio	Doador de pontes de hidrogênio	Proporção aceptor/doador
DES-1	Cloreto de colina	Glicerol	1:2
DES-2	Cloreto de colina	Etilenoglicol	1:2
DES-3	Cloreto de colina	Glicerol/Xilitol	1:2:0,5
DES-4	Cloreto de colina	Glicerol/PEG 400	1:2:0,5

Fonte: O autor

4.3.2 Avaliação da extração dos carotenoides pelos solventes eutéticos profundos

A extração foi realizada de acordo com o método descrito por List e Schmidt, (1984). Para avaliação da extração, 0,1 g das cascas e polpa de buriti, foram adicionados a tubos de ensaio contendo 2,0 mL da solução etanólica de DES sob as concentrações de 0,5%, 2,0%, 5,0%, 10,0%, 50,0% e 70,0%. Além disso, um controle de extração utilizando unicamente o etanol como solvente foi realizado. Em seguida, os sistemas foram submetidos a aquecimento a 50 °C por 30 minutos em banho termostático. Após esse período de extração, as amostras foram centrifugadas (Centrifuga refrigerada SL-706, SOLAB) a 8000 rpm por 5 minutos a 25 °C. O processo foi realizado em duplicata e a extração realizada no ambiente escuro. Os resultados foram expressos em miligrama de carotenoides totais por grama de amostra.

4.3.3 Extração etanólica dos carotenoides totais

Uma quantidade de 0,1 g de casca e polpa do buriti foram adicionados a 2 mL de etanol 95% em tubos de ensaio. Em seguida, as amostras foram levadas ao banho termostático (LIST; SCHMIDT, 1984) e ultrassom (CHEMAT; TOMAO; VIROT, 2008), para o processo de extração. As temperaturas de ambos os equipamentos foram fixadas em 50 °C, variando o tempo em 15, 20, 30 e 60 minutos para os dois equipamentos. No ultrassom utilizou-se uma potência de 150 W e uma frequência de

36 KHz (Lavadora Ultrassônica L200, Schuster). O processo foi realizado em duplicata e a extração realizada no ambiente escuro. Os resultados foram expressos em miligrama de carotenoides totais por grama de amostra.

4.3.4 Obtenção do solvente supramolecular à base de ácido octanóico (SUPRAS) e Extração de carotenoides

Os Solventes Supramoleculares (SUPRAS), foram obtidos seguindo a metodologia descrita por Salatti et al. (2019) com adaptações. Para a obtenção de 3 mL de SUPRAS foram utilizados 2 mL de ácido octanóico ($\geq 98\%$ Sigma-Aldrich) em 14 mL de etanol, e, adicionados a 24 mL de uma solução de HCl (0,01 M) para induzir a coacervação. A mistura foi agitada por 10 minutos, em agitador magnético (Modelo MA085/1, Marconi) com rotação de 2000 rpm e, em seguida, centrifugada por 8 minutos à 3500 rpm, para a divisão de fases. Duas fases foram obtidas: a fase superior contendo os SUPRAS e a fase inferior contendo uma solução equilíbrio, as quais foram armazenadas à 4 °C, para uso posterior. Para extração dos carotenoides da casca e polpa do buriti, seguiu-se o método descrito por Salatti et al. (2019) com adaptações. Para isso, 0,5 g de casca e polpa foram adicionados em tubos separadamente, em seguida adicionou-se a cada tubo 1,5 mL da solução equilíbrio e, imediatamente 1 mL do solvente supramolecular. A mistura foi agitada em agitador magnético por 8 minutos em uma rotação de 2000 rpm e, posteriormente centrifugada à 10000 rpm por 8 minutos. Em seguida, obteve-se 3 fases: a parte superior contendo o extrato com os carotenoides e fração lipídica, a parte intermediária formada pela solução equilíbrio (produto do que não reagiu na fase superior), e a biomassa ao fundo do tubo. Os ensaios foram realizados ao abrigo da luz e os extratos analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

4.4 DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES NOS SISTEMAS OBTIDOS

4.4.1 Carotenoides totais

A determinação dos carotenoides totais dos extratos da casca e da polpa do buriti obtidos na seção 4.3.2 e 4.3.3 foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm (RODRIGEZ-AMAYA, 2001). A concentração de

carotenoides totais foi estimada utilizando uma curva de calibração com padrão de betacaroteno (Sigma-Aldrich, USA) nas concentrações de 2,5 a 50,0 mg/L.

4.4.2 Quantificação de betacaroteno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os extratos da polpa e da casca do buriti, obtidos através da melhor condição para carotenoides totais na seção 4.3.3 e seção 4.3.4, foram inicialmente filtrados em membrana de 0,22 µm e, em seguida, 10 µL dos extratos foram submetidos à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (SPD-10AV VP, UV-VIS detector, Shimadzu), como relatado por Azevedo e Rodriguez (2004). Para tal, foi utilizada a coluna Shim-Pack CLC-ODS C18 (4,6 mm x 15 cm) e a fase móvel composta de diclorometano/metanol/acetonitrila, iniciado com proporções de 20:70:10 por 20 minutos, com um fluxo de 1 mL/min a 25 °C, em separação isocrática. Para a quantificação de betacaroteno foi construída uma curva padrão de betacaroteno (Sigma-Aldrich, USA) na faixa de concentração entre 0,05 e 30,00 µg/mL. Os resultados foram expressos em mg de betacaroteno por g de amostra de acordo com a Equação 1.

$$\text{Rendimento de betacaroteno (mg/g)} = \frac{C\beta c \text{ (mg/mL)} \times \text{volume total de extrato}}{\text{Peso da amostra (g)}} \times FD \quad (1)$$

Onde: Cβc= Concentração de betacaroteno obtida na CLAE, FD= Fator de diluição.

4.5 AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS NOS EXTRATOS

4.5.1 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais nos extratos foram analisados através de método descrito por Fujita et al. (2013). Em tubos de ensaio foram adicionados sequencialmente 2 mL de água destilada, 250 µL da amostra e 250 µL de reagente Folin-Ciocalteu, diluído na proporção 1:1 (v/v). As amostras foram homogeneizadas e deixadas em repouso por 3 minutos, e em seguida, foram adicionados 2 mL da solução de carbonato de sódio a 28,6% (p/v), e incubadas em banho-termostático a 37 °C por 30 minutos. Em seguida, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro a 725 nm contra um branco, no

qual a amostra foi substituída por água destilada. Os resultados foram calculados usando uma curva de calibração padrão de ácido gálico com concentrações na faixa de 2,5 a 15,0 mg/L. O resultado foi expresso em microgramas equivalentes de ácido gálico por g de amostra ($\mu\text{g EAG/g}$).

4.5.2 Análise de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência

Os extratos da polpa e da casca do buriti, obtidos através da melhor condição para carotenoides totais na seção 4.2.3 e seção 4.2.4, foram filtrados em membrana de 0,22 μm e submetido à análise por CLAE utilizando o sistema cromatográfico SPD-10AV-VP (UV-VIS detector, Shimadzu), conforme previamente descrito por Padilha et al. (2018b). A separação foi realizada em uma coluna Shim-Pack CLC-ODS C18 (4,6 mm x 15 cm) mantida a 25 °C, com fase móvel escoando em um fluxo de 0,6 mL/min por 18 minutos. Volume de 10 μL das amostras foram aplicados. A fase móvel foi composta por uma solução de ácido acético a 1% (AA) e acetonitrila grau HPLC (ACN). A corrida foi realizada usando o seguinte gradiente: AA 100% - ACN 30% (0-5) minutos, seguido de ACN 30% - 70% (5-10) minutos, seguido de ACN 70% -100% (10 e 15) minutos. Por fim, a corrida foi encerrada após 15-18 minutos com 0% da Fase AA. Os padrões foram solubilizados em ácido acético e etanol (1,5;1). Curvas de calibração foram construídas em concentrações de 0,5 a 100 $\mu\text{g/mL}$ dos padrões de ácido gálico, catequina, ácido elágico, quercetina e eugenol (Sigma-Aldrich, USA). Os resultados foram expressos em mg/100g de amostra.

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DOS EXTRATOS COM MAIOR RENDIMENTO DE BETACAROTENO

4.6.1 Sequestro do radical DPPH

A capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) nos extratos obtidos da polpa e casca do buriti com maior rendimento de betacaroteno foi avaliada conforme Medeiros de Azevedo et al. (2020). Para cada extrato foram analisadas as concentrações de 0,66, 1,33, 2,00, 2,66 e 3,33 μg equivalente a betacaroteno/mL de amostra. Assim, 100 μL da amostra em cada diluição foram adicionados a 200 μL de uma solução de DPPH (0,1 mM) em etanol. A mistura foi

incubada por 30 minutos em câmara escura e a leitura realizada a 517 nm em leitor de microplacas (Asys Uvm340, Biochrom, Cambridge, UK). Foi construída uma curva padrão com concentrações de BHT variando de 0,66 a 3,33 µg/mL. A concentração efetiva do extrato em que 50% dos radicais foram eliminados (EC₅₀) foi determinada por meio de regressão linear. A capacidade da amostra de sequestrar os radicais DPPH (%) foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$\text{Sequestro de radicais DPPH (\%)} = 1 - \frac{\text{abs amostra}}{\text{abs controle negativo}} \times 100 \quad (2)$$

4.6.2 Sequestro do radical ABTS

A capacidade de sequestro do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico (ABTS) dos extratos obtidos da polpa e casca do buriti com maior rendimento de betacaroteno foi determinada conforme Rufino et al. (2007). Foi realizado utilizando microplacas com 96 poços. Para cada amostra foram analisadas as concentrações de 0,66, 1,33, 2,00, 2,66 e 3,33 µg equivalente a betacaroteno/mL de amostra. A mistura foi incubada por 6 minutos em câmara escura e a leitura realizada a 730 nm em leitor de microplacas. Foi construída uma curva padrão com concentrações de BHT variando de 0,66 a 3,33 µg/mL. A concentração efetiva do extrato em que 50% dos radicais foram eliminados (EC₅₀) foi determinada por meio de regressão linear. A capacidade da amostra de sequestrar os radicais ABTS (%) foi calculada de acordo com a Equação 3.

$$\text{Sequestro de radicais ABTS (\%)} = 1 - \frac{\text{abs amostra}}{\text{abs controle negativo}} \times 100 \quad (3)$$

4.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.7.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) utilizando cepas de referência

A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo conforme metodologia previamente descrita por CLSI (2018). Foram utilizadas linhagens de bactérias de referência Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC 4028) e Gram-negativa, *Escherichia coli* (ATCC 25922).

As linhagens foram semeadas em meio “*Brain Heart Infusion*” (BHI) e incubadas a 37 °C por 24 h. Após a incubação, a suspensão foi diluída em cloreto de sódio 0,9%, de modo a se obter uma turbidez equivalente ao padrão de McFarland 0,5 (aproximadamente 1×10^8 UFC/mL), que foi diluída 10 vezes, resultando em uma suspensão com aproximadamente 10^7 UFC/mL. Aos poços da placa de micro diluição foram adicionados 100 µL de caldo BHI a 10%, 100 µL dos extratos em diluição seriada, e, por fim, 5 µL da suspensão microbiana. Os extratos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) a 10%, nas concentrações testes iniciais de 8 a 512 µg/mL de amostra. Os ensaios foram realizados em duplicata.

Poços contendo apenas caldo BHI na ausência da suspensão de micro-organismo foram utilizados como controle de esterilidade e os poços com a suspensão de micro-organismo na ausência dos extratos foram usados como controle positivo de crescimento. A microplaca foi incubada por 24 h, sob agitação de 200 rpm, a 37 °C. A leitura da absorbância foi realizada no comprimento de onda 492 nm foi realizada em um leitor de microplacas (Diatek, DR200Bs, Wuxi, China).

4.7.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e avaliação da atividade modificadora de antibióticos em cepas multirresistentes

4.7.2.1 Linhagens bacterianas

As linhagens multirresistentes *Staphylococcus aureus* 10, *Pseudomonas aeruginosa* 24 e *Escherichia coli* 06 foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA (Crato - CE, Brasil). A origem e o perfil de resistência dessas linhagens foi previamente descrito por Bezerra et al. (2017). As linhagens bacterianas foram semeadas em *Brain Heart Infusion* (BHI) e incubadas a 37 °C por 24 h. Para obtenção dos inóculos, a suspensão de cada micro-organismo em solução salina 0,9% estéril foi obtida e a turbidez ajustada para 0,5 da escala de McFarland.

4.7.2.2 Preparo dos extratos

Para realização do teste, 10 mg dos extratos supramoleculares da casca e da polpa do buriti, foram diluídos em 1 mL de DMSO. Em seguida, 8,765 mL de água destilada estéril foram adicionados, para obter uma solução dos extratos na

concentração de 1024 µg/mL, esta solução foi usada para testes de concentração inibitória mínima (CIM) e avaliação da atividade moduladora de antibióticos.

4.7.2.3 Determinação da concentração inibitória mínima e atividade moduladora de antibióticos

A determinação da CIM e a avaliação da atividade moduladora de antibióticos dos extratos, seguiu a metodologia descrita por Javadpour et al. (1996) e Coutinho et al. (2010). Para verificar a ação dos extratos SUPRAS da casca e da polpa como modificadoras da ação antibiótica, a CIM de antibióticos da classe dos aminoglicosídeos (gentamicina), fluoroquinolonas (norfloxacino) foi avaliada na presença e na ausência das substâncias testes. Em microplacas de 96 poços realizou-se a diluição seriada dos antibióticos gentamicina e norfloxacino para as concentrações de 8 a 1024 µg/mL em caldo BHI 10%. Em seguida, foram adicionados 150 µL da suspensão (inóculo) de cada cepa avaliada. Cada poço da microplaca foi preenchido com 150 µL de extrato supramolecular da casca e da polpa do buriti em concentrações variando de 8 a 1024 µg/mL. Foram realizados controles positivos de crescimento utilizando 1350 µL de caldo BHI a 10% e 150 µL do inóculo. As placas foram incubadas em estufa a 35 °C por 24 h. Para evidenciar a CIM das amostras, foi preparada uma solução indicadora de resazurina sódica em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20 µL da solução indicadora foi adicionado em cada cavidade e as placas passaram por um período de incubação de 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa devido à redução da resazurina indicou o crescimento bacteriano (PALOMINO et al., 2002). A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Para atividade antibacteriana, os resultados foram analisados por análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Bonferroni usando o software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA). As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Para os demais ensaios, a análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey, considerando o grau de confiança de 95% ($p < 0,05$) como resultado significativo, utilizando software Statistica 7.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 EXTRAÇÃO DOS CAROTENOIDES UTILIZANDO SOLVENTES EUTÉTICOS PROFUNDOS (DES)

Nesse estudo, quatro solventes eutéticos profundos (DES) a base de cloreto de colina foram avaliados como co-solventes para extração de carotenóides da casca e da polpa do buriti.

A maioria dos processos de extração de carotenóides é realizado com solventes apolares como hexano (SAINI; KEUN, 2018). As extrações realizadas com hexano são notoriamente as mais utilizadas para se obter altos rendimentos, principalmente quando se trata de uma matriz rica em compostos apolares. No entanto, esse solvente é oriundo de fontes não renováveis, além de ser tóxico e inflamável (REGITANO-D'ARCE; SANGALETTI-GERHARD; BUENO-BORGES, 2017; ROTA, 2015). Nesse sentido, a busca por solventes alternativos é extremamente relevante e necessária. Os DESs têm recebido grande destaque da comunidade científica nos últimos anos devido ao seu custo-benefício, sendo de fácil preparo e baixo custo (COSTA, 2016; FU et al., 2019).

O etanol, quando utilizado sem DES (controle) proporcionou o maior rendimento, com valor de $10,43 \pm 0,31$ mg/g de carotenoides totais da casca de buriti. A Tabela 1 apresenta os resultados do rendimento de extração etanólica de carotenoides totais da casca de buriti utilizando DESs como adjuvantes. Na concentração de 0,5% não houve diferença estatística no rendimento entre os sistemas estudados (DES-1; DES-2; DES-3 e DES-4) e o controle sem DES. Além disso, o DES-3 a 2,0% e os DESs 1 e 2 a 10,0% não apresentaram diferença de rendimento em relação ao controle ($p < 0,05$).

Tabela 1 - Rendimento da extração de carotenoides totais da casca do buriti (mg/g) frente aos quatro sistemas de Solventes Eutéticos Profundo (DES) em diferentes concentrações.

SISTEMAS DES	Concentração de DES (%)					
	0,5	2,0	5,0	10,0	50,0	70,0
1	8,99 ± 0,11 ^{aA}	5,78 ± 0,30 ^{bB}	4,58 ± 0,20 ^{abCB}	8,26 ± 0,41 ^{aA}	1,48 ± 0,02 ^{bD}	0,39 ± 0,01 ^{bD}
2	10,15 ± 0,25 ^{aA}	5,92 ± 0,37 ^{bB}	5,05 ± 0,21 ^{abBC}	7,27 ± 0,42 ^{aA}	2,21 ± 0,07 ^{bD}	0,96 ± 0,01 ^{bD}
3	8,78 ± 0,06 ^{aA}	7,71 ± 0,16 ^{aA}	6,82 ± 0,18 ^{abBC}	6,31 ± 0,02 ^{abB}	2,96 ± 0,03 ^{bD}	1,23 ± 0,03 ^{bD}
4	7,72 ± 0,01 ^{aA}	6,84 ± 0,35 ^{abB}	4,93 ± 0,14 ^{bCB}	6,71 ± 0,14 ^{abB}	3,19 ± 0,08 ^{bD}	1,35 ± 0,06 ^{bD}

Nota: Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre os DES e letras maiúsculas nas linhas indicam a diferença estatística entre as diferentes concentrações, considerando $p < 0,05$.

Além disso, o etanol, usado como controle, proporcionou um rendimento de 10,03 mg/g de carotenoides totais da polpa de buriti. A Tabela 2 apresenta os resultados do rendimento de extração de carotenoides totais da polpa de buriti utilizando os DESs. Entre as diversas concentrações de DES-1, DES-2 e DES-3 testadas, somente a concentração de 0,5% teve rendimento comparável ao controle sem DES ($p < 0,05$). O mesmo foi observado para o para DES-4 nas concentrações de 0,5% e 2,0%, que apresentaram rendimentos iguais ao controle ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Rendimento da extração de carotenoides totais da polpa do buriti (mg/g) frente aos quatro sistemas de Solventes Eutéticos Profundo (DES) em diferentes concentrações.

SISTEMAS DES	Concentração de DES (%)					
	0,5	2,0	5,0	10,0	50,0	70,0
1	8,74 ± 0,25 ^{aA}	6,25 ± 0,01 ^{abB}	5,75 ± 0,02 ^{bB}	5,32 ± 0,07 ^{bB}	2,30 ± 0,07 ^{bD}	0,49 ± 0,01 ^{bD}
2	7,79 ± 0,02 ^{aA}	6,45 ± 0,29 ^{abB}	4,48 ± 0,16 ^{bCB}	4,96 ± 0,08 ^{bCB}	1,44 ± 0,01 ^{bD}	1,19 ± 0,01 ^{bD}
3	10,30 ± 0,08 ^{aA}	6,78 ± 0,68 ^{abB}	5,89 ± 0,35 ^{bB}	5,24 ± 0,20 ^{bB}	1,56 ± 0,01 ^{bD}	0,29 ± 0,01 ^{bD}
4	7,91 ± 0,03 ^{aA}	7,24 ± 0,13 ^{aA}	5,40 ± 0,01 ^{bB}	5,62 ± 0,01 ^{bB}	2,10 ± 0,05 ^{bD}	0,41 ± 0,01 ^{bD}

Nota: Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre os DES e letras maiúsculas nas linhas indicam a diferença estatística entre as diferentes concentrações, considerando $p < 0,05$.

O etanol como co-solvente extrativo na recuperação de carotenoides totais teve o mesmo desempenho ou até mesmo desempenho superior aos DESs em diversas concentrações testadas. Visto isso, os DESs parecem desnecessários

nesse estudo. Como o etanol isoladamente apresentou excelente desempenho de recuperação dos carotenoides totais da casca e da polpa do buriti, a utilização dos DESs tornaria o processo oneroso.

Dentre os doadores de pontes de hidrogênio utilizados na síntese dos DESs, o que apresenta melhor custo-benefício e menor complexidade de obtenção é o glicerol, utilizado no sistema DES-1. O glicerol além de ter um baixo custo é abundante na natureza e tem potenciais aplicabilidades na indústria de cosmética e farmacêutica (DA SILVA; MACK; CONTIERO, 2009).

No entanto, vale salientar que, o baixo rendimento de carotenoides totais comparado com a extração feita unicamente com etanol, pode estar atrelado a complexidade da matriz em estudo, o buriti, que em sua composição de carotenoides, tem como principal composto o betacaroteno, conhecido por ser extremamente apolar (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015; CORDEIRO; DE ALMEIDA; IACOMINI, 2015;), ressaltando quimicamente a necessidade de haver grupos funcionais que confirmem certa polaridade nos compostos da matriz para que haja interações entre os solventes eutéticos e os compostos majoritários da matriz em estudo (LEE; ROW, 2016).

Como apresentado nas Tabelas 1 e 2, nas maiores concentrações de DESs foram observados os mais baixos rendimentos de extração de carotenoides totais. Esta redução no rendimento pode estar ligada ao aumento da viscosidade em cada sistema. Os DESs são conhecidos por sua alta viscosidade, que é uma característica química que está diretamente envolvida no processo de transferência de massa, podendo ter sido um fator limitante na extração dos bioativos. Nota-se que, não existem diferenças de rendimento entre o controle e as menores concentrações (0,5%) de DES, que podem ser associadas à diferenças inexpressivas na viscosidade em baixas concentrações do adjuvante. Entende-se que, quanto maior a viscosidade, mais difícil é o processo de transferência de massa (DAI et al., 2013; MA et al., 2011). Nessas situações, mesmo com temperaturas ideais, que aumentariam a mobilidade das moléculas, a transferência de massa é extremamente baixa devido à alta viscosidade, que dificulta o trânsito das moléculas (RUIZ-OLLES et al., 2019).

Toda essa complexidade na extração dos bioativos com DES, é dependente de fenômenos de natureza termofísica, dependente de temperatura, densidade, viscosidade e condutividade, que precisam ser minuciosamente estudadas

(CRAVEIRO et al., 2016; GE et al., 2017). O estudo de Lee e Row (2016), corrobora com este, quando enfatiza um aumento no rendimento de astaxantina para 73,43 µg/g com a diminuição da concentração de DESs usada no sistema, relacionado o aumento no rendimento com a diminuição da viscosidade.

O processo de difusão é de extrema importância, visto que, através do controle da temperatura e técnicas de agitação, pode-se favorecer o rompimento celular do vegetal, promovendo efetivamente a transferência de massa (CUI, 2015). Estudos já demonstraram a eficiência dos DESs quanto solventes, na otimização do rendimento frente a outros sistemas extrativos, na extração de astaxantina, alcaloides e compostos fenólicos (BI; TIAN; ROW, 2013; LEE; ROW, 2016). Cao et al. (2019) utilizaram DES na extração de fenólicos totais de *Calamoideae faberii*, obtendo rendimentos de 6,82 mg/g em uma proporção sólido-líquido 1:15. Apesar dos fenólicos possuírem propriedades químicas diferentes dos carotenoides, esse estudo se assemelha no uso do solvente.

Nesse sentido, a busca por solventes alternativos no processo extrativo é extremamente relevante e necessária. O etanol é considerado um solvente biodegradável e o uso em pequenas quantidades é considerado seguro, pode ser substituído por solventes como hexano, sem a mesma seletividade, principalmente quando se trata de matriz com compostos majoritariamente apolares (GANDHI et al., 2003; SANTOS, 2018). Destaca-se que o presente estudo contribui com a literatura, pois não encontrou-se relatos sobre o uso de DESs na extração de carotenoides do buriti.

5.2. EXTRAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS DA CASCA E POLPA DO BURITI VERSATILIZANDO SOLVENTE E TÉCNICAS

5.2.1 Extração de carotenoides totais da casca e polpa do buriti com etanol, assistida por ultrassom e banho termostático

Nesse aspecto, buscou-se por alternativas para intensificar a extração. Baseado nos resultados anteriormente obtidos, foram estudados dois solventes considerados seguros e verdes: O etanol, com auxílio do ultrassom e o solvente supramolecular (SUPRAS).

Os resultados quanto a extração realizada com etanol de carotenoides da polpa e da casca do buriti, por meio de técnica convencional e ultrassom, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Rendimento da extração de carotenoides totais (carotenoides totais mg/g) do extrato etanólico da casca e da polpa de buriti.

Tempo (minutos)	Polpa		Casca	
	Ultrassom	Técnica convencional	Ultrassom	Técnica convencional
15	10,81±0,17 ^{aA}	5,57±0,01 ^{bB}	6,20±0,04 ^{bA}	5,99±0,01 ^{bA}
20	11,23±0,11 ^{aA}	6,65±0,10 ^{bB}	6,98±0,10 ^{bA}	6,48±0,03 ^{bA}
30	13,00±0,16 ^{aA}	6,33±0,01 ^{bB}	8,59±0,08 ^{abB}	10,43±0,31 ^{aA}
60	11,86±0,14 ^{aA}	10,03±0,01 ^{abB}	9,81±0,02 ^{aA}	9,16±0,01 ^{abA}

Nota: Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre os tempos avaliados e letras maiúsculas diferentes nas mesmas linha indicam diferença estatística entre as técnicas considerando $p < 0,05$.

Manteve-se a temperatura constante de 50 °C nas duas técnicas de extração, como sendo a temperatura ideal para evitar degradação e obter rendimentos satisfatórios. Essa temperatura favorece a solubilização dos compostos majoritários como betacaroteno (TRÊS et al., 2007). Temperaturas mais elevadas demonstraram decaimento no rendimento, uma vez que podem dificultar o processo de cavitação (ZUPANC et al., 2019).

Dessa forma, não houve diferença estatística no rendimento de extração dos carotenoides totais da polpa para os tempos avaliados (15-60 minutos) pela técnica de extração assistida por ultrassom. Para extração realizada com o etanol, os maiores rendimentos de extração de carotenoides totais da polpa do buriti foram obtidos pelo emprego do ultrassom. Analisando esses resultados, pode-se afirmar que, mesmo com a variação dos tempos selecionados para extração dos carotenoides totais da polpa, os rendimentos parecem ser semelhantes. Assim, sugere-se que já nos primeiros 15 minutos ocorreu a saturação do solvente. Os resultados do presente estudo corroboram com os previamente descritos por Civan; Kumcuoglu (2019), que no menor tempo de extração (5 minutos) usando ultrassom obtiveram rendimentos de carotenoides da pasta de pimenta (*Capsicum annuum* L.)

semelhantes (em torno de 232,46 mg/100g) usando azeite como solvente, e que os demais tempos, de 10, 15 e 20 minutos, não demonstraram diferença estatisticamente significativa.

Isso deve-se principalmente a alta eficiência do ultrassom, que auxilia nos processos extrativos através do fenômeno de cavitação, fenômeno no qual bolhas que se formam no interior da célula vegetal, rompendo a parede celular e, conseqüentemente, aumentando o contato dos bioativos com o solvente (KUMCUOGLU; YILMAZ; TAVMAN, 2014). Além disso, o processo de cavitação pode, na maioria das vezes, fragmentar a superfície da matriz vegetal, diminuindo o tamanho da partícula e aumentando a superfície de contato (WEN et al., 2018).

Ademais, acredita-se que efeitos sonocapilar atribuídos ao ultrassom, podem ter causado fissura e abertura de poros na matriz vegetal, de forma que o solvente pode ter entrado em contato de forma veloz e eficaz com a matriz vegetal (polpa do buriti) (ASHOKKUMAR, 2011). Similarmente ao presente estudo, Li et al. (2013) confirmam a eficiência do ultrassom na extração de carotenoides, em especial o betacaroteno de cenouras, matriz vegetal com características químicas muito semelhantes ao buriti.

Assim, através da extração convencional, observou-se um aumento no rendimento de carotenoides totais da polpa para o tempo de 60 minutos (10,03 mg/g), diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) dos tempos 15, 20 e 30 minutos. No rendimento de carotenoides totais extraídos da casca utilizando a extração assistida por ultrassom, a quantidade de carotenoides obtidos no tempo de 30 minutos (8,59 mg/g) e 60 minutos (9,81 mg/g) foi estatisticamente igual, sendo este último diferente dos tempos 15 e 20 minutos.

Ressalta-se, ainda, que a solubilidade dos compostos alvos pode ter diminuído, devido ao aspecto e estrutura do material (casca e polpa), que são afetados por diferentes graus de cavitação (VILKHU et al., 2011). Nesse caso, apesar de termos fixado a frequência de 36 kHz na extração, é importante salientar que a eficiência do ultrassom depende, também, da temperatura e potência empregadas. Assim, quanto menor a frequência, mais bolhas de maior tamanho são formadas, e, conseqüentemente, maior o colapso. Porém, baixas frequências podem gerar bolhas transitórias em pequena quantidade, embora com maior raio, satisfazendo os efeitos físicos ao invés de químicos, enquanto que frequências altas, parecem atrasar o processo de rarefação das bolhas, nesse sentido as bolhas não

tem tempo de se formarem, e por isso não atingem de forma homogênea a matriz vegetal (CHEMAT et al., 2017).

Estudos avaliando a extração de carotenoides já foram realizados utilizando técnicas convencionais, porém, com a necessidade de recursos sustentáveis tem-se cada vez intensificado na busca de técnicas alternativas (CHUYEN et al., 2018), principalmente técnicas que visem a diminuição da utilização de solventes orgânicos e que minimizem os longos períodos de extração, que demandam alto gasto de energia (CHUYEN et al., 2017a; CHUYEN et al., 2017b).

Quanto ao rendimento de carotenoides totais da casca utilizando a extração por técnica convencional, nos tempos de 30 (10,43 mg/g) e 60 (9,16 mg/g) minutos, são estatisticamente iguais, sendo que os resultados obtidos no tempo de 30 minutos diferiram estatisticamente dos encontrados para os tempos 15 e 20. Nesse mesmo raciocínio, ressalta-se que a técnica convencional mostrou-se efetiva, na extração de carotenoides totais da casca, mesmo com o dobro do tempo empregado para técnica assistida por ultrassom. De maneira análoga, Xu e Pan (2013), ao avaliar rendimentos de extração de licopeno, relatam que tempos maiores de extração foram necessários para a técnica convencional de extração para se obter rendimentos comparados técnica assistida por ultrassom. Entende-se que, durante as extrações convencionais, os solventes podem simplesmente não conseguir permear as células, e, estagnar ao redor das mesmas, impedindo os processos de difusão, e, conseqüentemente, dificultando o processo de transferência de massa (MEHMOOD et al., 2019).

É importante destacar, ainda, que vários fatores devem ser levados em conta para explicar a diferença no rendimento da polpa e da casca utilizando o ultrassom. Assim, a temperatura pode ter interferido diretamente nas propriedades do solvente, levando o aumento da pressão de vapor, e, conseqüentemente, a diminuição das bolhas de cavitação (CARRERA et al., 2012). Além disso, a temperatura usada estava muito próxima do ponto de ebulição do etanol, podendo diminuir a dessorção do solvente na matriz (ESCAPLEZ et al., 201; SHIRSATH; SONAWANE; GOGATE, 2012). Ordóñez-santos et al. (2015), na extração de carotenoides de *Bactris gasipaes* assistida com ultrassom, obtiveram rendimentos de 1,63 mg/g de carotenoides, em temperatura de 35 °C por 30 minutos. Os resultados descritos por Dey e Rathod, (2013), corroboram com os obtidos no presente estudo,

demonstrando a temperatura de 40 e 50 °C como ideal para extração de carotenoides de *Spirulina platensis*.

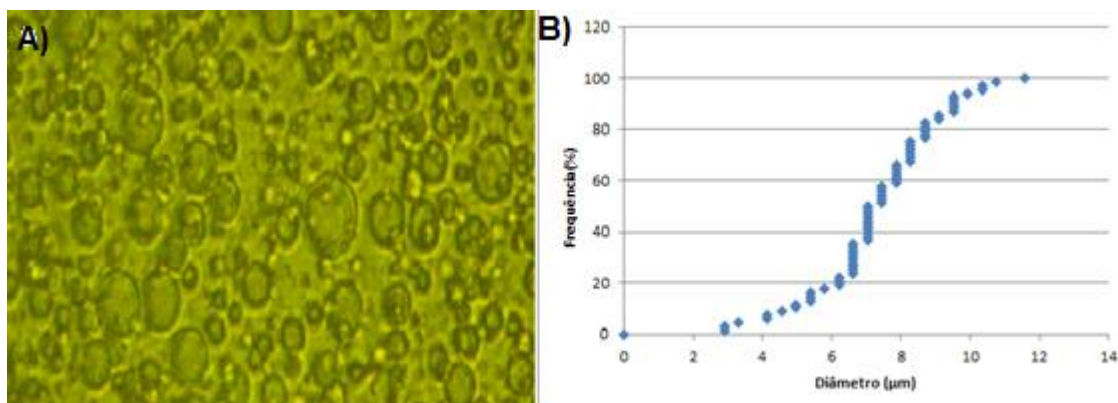
Quando aplicado o teste estatístico entre as técnicas de extração para casca e polpa separadamente, foi possível selecionar a melhor condição de extração para carotenoides totais, são eles: tempo 15 minutos para polpa utilizando o ultrassom e tempo 30 para casca utilizando técnica convencional. A extração assistida por ultrassom é considerada uma técnica ambientalmente amigável, devido a necessidade de um menor tempo de extração e menor quantidade de solvente (WEN et al., 2018). A otimização das técnicas de extração de um determinado composto de matrizes vegetais é sempre bem vista, no entanto, vale salientar que mesmo quando os rendimentos são próximos aos obtidos por técnica convencional, outros aspectos são de grande valia, como a diminuição na quantidade de solvente utilizada, massa e tempo (CHEMAT et al., 2017; RAHIMI; MIKANI, 2019).

Diante dos resultados obtidos, as condições de maior rendimento de extração para carotenoides totais para a polpa (Extração assistida por ultrassom por 15 minutos) e para casca (Extração convencional por 30 minutos) foram selecionadas para as etapas seguintes do estudo.

5.2.2 Obtenção do solvente supramolecular (SUPRAS) e extração de carotenoides da casca e polpa do buriti

Os SUPRAS são líquidos nano-estruturados de caráter anfifílico, formados por processo de auto montagem a partir de coacervação. Para obtenção do solvente supramolecular são usadas etapas extremamente simples e com tempos relativamente baixos. Este trabalho propôs a obtenção de 7 mL do solvente, usando as mesmas proporções indicada por Salatti-Dorado et al., (2019). No entanto, obteve-se somente 3 mL do solvente. A Figura 7 (A), confirma, a partir de visualização em microscopia óptica, a formação desses agregados em escala micrométrica. A Figura 7 (B), apresenta a frequência do tamanho de gotículas obtidas para o SUPRAS, em que a frequência de estruturas com diâmetro abaixo de 6 µm foi de 20%.

Figura 7 - Imagem por microscopia óptica de solventes supramoleculares e frequência do tamanho de gotículas.



Nota: Aumento de 100x para visualização

Além disso, os extratos etanólicos selecionados na Seção 5.2.1 foram também avaliados. A Tabela 4, apresenta os valores de betacaroteno, compostos fenólicos totais e fenólicos majoritários nos extratos. Percebe-se que, as extrações realizadas com SUPRAS, apresentaram quantidades de betacaroteno superiores as extrações realizadas com etanol, para a polpa ($26,7 \pm 0,02$ mg/g) e casca ($5,82 \pm 0,05$ mg/g). França et al. (1999), por meio de extração supercrítica extraíram 0,78 mg/g de betacaroteno do buriti, valores inferiores aos obtidos no presente estudo. O maior rendimento de betacaroteno utilizando SUPRAS é justificado pela presença do ácido octanóico e etanol, que podem conjuntamente gerar equilíbrio de interações hidrofóbicas e eletrostáticas entre o betacaroteno e o sistema micelar formado (DUARTE; CANSELIER, 2005).

Na perspectiva de aplicação dos extratos obtidos em preparações farmacêuticas, cosméticas ou alimentícias, deve-se selecionar reagentes seguros, mesmo que não apresentem elevada seletividade para moléculas apolares. O etanol foi escolhido para elaboração do SUPRAS por ser biodegradável, seguro e atuar na configuração estável das micelas (GANDHI et al., 2003). Similar ao presente estudo, Salatti-Dorado et al. (2019) obtiveram boa recuperação de astaxantina (~98%) extraída de *Haematacoccus pluviialis* com SUPRAS a base de ácido octanóico e etanol. Assim, sugere-se que o ácido octanóico auxilia melhor na extração da molécula da astaxantina, devido a presença de grupos funcionais que não estão presentes na molécula do betacaroteno (YUAN; JIN; XU, 2012).

Em relação aos compostos fenólicos totais, não houve diferença no rendimento utilizando SUPRAS para polpa ($32,1 \pm 1,2$ µg EAG/g) e casca ($24,53 \pm 4,9$ µg

EAG/g). Em estudo anterior, Candido et al. (2015) relataram que o perfil de bioativos no fruto do buriti pode ser influenciado pela região de coleta. Neste sentido, os frutos oriundos da região amazônica podem apresentar menor concentração de fenólicos quando comparados à região do cerrado. Koolen et al. (2013) apresentam valores de fenólicos totais superiores (3,78 mg/g) quando comparado ao presente estudo, porém a análise compreendeu o fruto por completo.

Em relação aos fenólicos identificados nos extratos, destaca-se a presença de ácido gálico, quercetina e catequina (Tabela 4). De maneira similar, Bataglion et al. (2014) descreveram 13 flavonoides na polpa do buriti, dentre eles catequina e quercetina. Como esperado, o ácido gálico foi o composto fenólico mais abundante nas extrações com SUPRAS, uma vez que trata-se do fenólico mais frequente na maioria dos vegetais (FERNANDES et al., 2019). Esses achados são de grande interesse, uma vez que o ácido gálico desempenha atividades biológicas como antioxidante (PHONSATTA et al., 2017); antibiofilme (SRIVASTAVA et al., 2020); antimicrobiano e anticâncer (MAHDAVI et al., 2020). Além disso, a quercetina, presente em todos os extratos obtidos, representa outro bioativo com inúmeras atividades biológicas, como antioxidante (BIRINCI et al., 2020) e anticâncer (REYES; CARRASCO, 2019).

Tabela 4 - Concentração de betacaroteno, compostos fenólicos totais e fenólicos majoritários nos extratos da casca e polpa de buriti.

Parâmetro	Extrato			
	ECS	EPS	EEC	EEP
Betacaroteno (mg/g)	5,82 ± 0,05 ^B	26,7 ± 0,02 ^A	1,86 ± 0,02 ^C	2,86 ± 0,09 ^C
Compostos fenólicos totais (µg EAG/g)	24,5 ± 4,9 ^A	32,1 ± 1,2 ^A	24,9 ± 0,3 ^A	18,76 ± 0,9 ^B
Fenólicos majoritários				
Ácido Gálico (mg/100 g)	1,83 ± 0,01	5,06 ± 0,06	0,17 ± 0,03	0,46 ± 0,01
Catequina (mg/100g)	ND	ND	3,11 ± 0,05	ND
Ácido elágico (mg/100g)	0,60 ± 0,05	0,13 ± 0,05	0,24 ± 0,09	ND
Quercetina (mg/100g)	0,59 ± 0,09	0,77 ± 0,06	0,44 ± 0,01	0,63 ± 0,03
Eugenol (mg/100g)	0,26 ± 0,06	0,16 ± 0,01	0,12 ± 0,05	0,28 ± 0,03

Nota: ECS= Extrato Casca Supra; EPS = Extrato Polpa Supra; EEP = Extrato etanólico polpa; EEC = Extrato etanólico Casca; AcG = Ácido Gálico; ND = Não detectado. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os extratos da polpa e da casca, considerando $p < 0,05$.

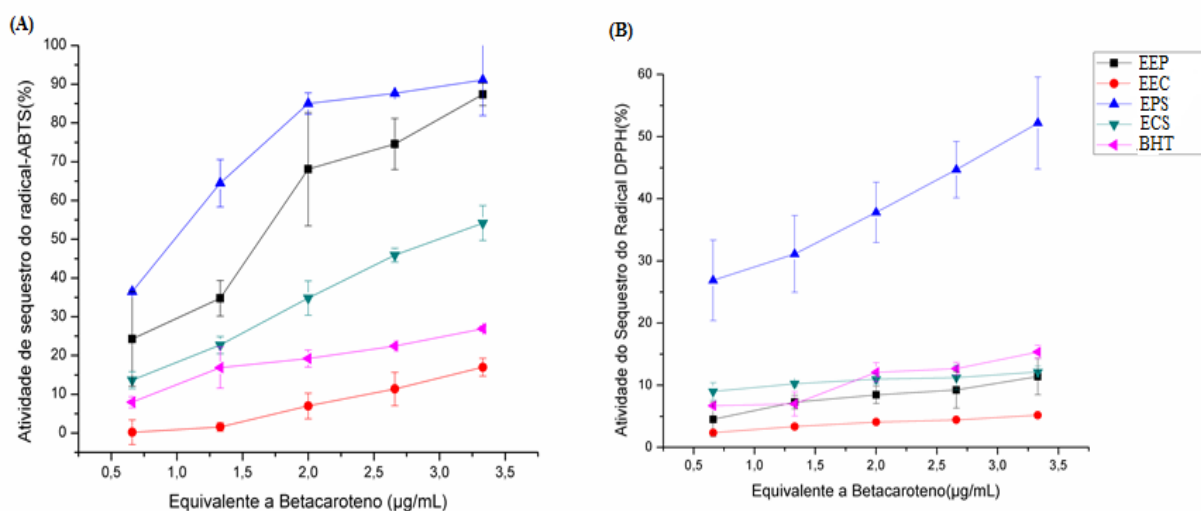
O SUPRAS usado nesse estudo foi efetivo no processo de extração de bioativos do buriti. Os rendimentos de extração podem ser explicados por suas características químicas versáteis, decorrentes da natureza anfifílica do ácido octanóico, que pode ter intensificado a interação do solvente com o betacaroteno e os lipídeos da matriz vegetal. Além disso, já foi demonstrado sua capacidade de formar estruturas supramoleculares a base de ácido octanóico, que evitam a oxidação dos carotenóides e, conseqüentemente, aumentam a estabilidade dos extratos obtidos (BALLESTEROS-GÓMEZ; SICILIA; RUBIO, 2010).

Assim, acredita-se que o SUPRAS foi eficiente na extração do betacaroteno, além de uma fração rica em lipídeos, demonstrando ser um sistema biocompatível. Outros estudos já relataram a eficiência desse sistema, na extração de betacaroteno de frutas e sucos (POURREZA et al., 2015), e licopeno e carotenoides totais da laranja de polpa vermelha (CHATZILAZAROU et al., 2011). Porém, ainda não foram relatados estudos atribuindo a seletividade desses solventes para betacaroteno da casca e fruto do buriti.

5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DOS EXTRATOS

A atividade antioxidante dos extratos de buriti que favoreceram maiores rendimentos de betacaroteno foi avaliada pelos métodos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS. Estes ensaios são frequentemente utilizados para determinar a capacidade antioxidante de frutas e bioativos presente em vegetais (RUFINO et al., 2007; MEDEIROS DE AZEVEDO et al., 2020). As Figuras 8 (A) e 8 (B) apresentam o percentual de sequestro em função da concentração dos extratos em equivalente a betacaroteno para os radicais ABTS e DPPH, respectivamente.

Figura 8 - Percentual de sequestro do radicais ABTS (A) e DPPH (B) em função da concentração extratos da casca e da polpa de buriti.



Nota: ECS= Extrato Casca Supra; EPS = Extrato Polpa Supra; EEP = Extrato etanólico polpa; EEC = Extrato etanólico Casca; BHT= 2,6-bis(1,1-dimetiletil) -4-metilfenol.

Percebe-se que o extrato da polpa SUPRAS (EPS) obteve as maiores atividades antioxidantes, com capacidade de sequestro de 52,19% para o radical DPPH, e 91,10% para o radical ABTS na concentração de 3,33 μg equivalente a betacaroteno/mL. Por outro lado, o padrão BHT, na maior concentração avaliada, mostrou percentuais de 15,33% e 26,93% para o sequestro dos radicais DPPH e ABTS, respectivamente.

A atividade antioxidante exercida pelo EPS é reflexo das maiores concentrações de betacaroteno e fenólicos totais neste extrato (Tabela 4). A ação antioxidante do betacaroteno pode ser explicada pela sua capacidade de atuar inibindo as etapas de iniciação e propagação de radicais livres. A disposição das duplas ligações do polieno interage com diferentes radicais livres pelo processo de transferência de energia de excitação para molécula de betacaroteno (CARDOSO, 1997; CHEN et al., 2017; PANGESTUTI; SIAHAAN; KIM, 2018).

O betacaroteno pode atuar como excelente inibidor de oxigênio singlete. Os oxigênios singletos são extinguidos ao se ligarem as moléculas de betacaroteno que são automaticamente oxidadas pelo alto potencial redox dos radicais, esse mecanismo pode impedir a formação de radicais livres (CAROCHO; FERREIRA, 2013; EL-AGAMEY et al., 2004; GAMMONE; RICCONI; D'ORAZIO, 2015). Os carotenoides apresentam enorme potencial, principalmente relacionado a sua

capacidade fotoprotetora, através da absorção da luz contra danos foto-oxidativos (CHEN et al., 2017; STAHL; SIES, 2012).

Os resultados de EC_{50} para os extratos avaliados são apresentados na Tabela 5. A disparidade entre os valores de EC_{50} utilizando os métodos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS pode ser atribuída a características do solvente, solubilidade dos carotenoides ou limitações do método. Assim, sugere-se que o método mais sensível para avaliação da atividade antioxidante de extratos de natureza hidrofóbica, como os utilizados neste trabalho, seja o sequestro do radical ABTS (CÂNDIDO et al., 2015; DUDONNE et al., 2009; PUNTEL; NOGUEIRA; ROCHA, 2005).

Tabela 5 - Valores de EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) para atividade antioxidante dos extratos da polpa e casca do buriti utilizando os métodos de sequestro dos radicais DPPH e ABTS.

Extrato	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	
	DPPH	ABTS
ECS	$38,13 \pm 1,10$	$3,00 \pm 3,06$
EPS	$3,18 \pm 5,89$	$0,84 \pm 3,81$
EEC	$47,87 \pm 0,22$	$6,83 \pm 2,89$
EEP	$19,72 \pm 2,20$	$1,68 \pm 8,21$
BHT (Padrão)	$13,37 \pm 1,19$	$6,79 \pm 2,04$

Nota: ECS= Extrato Casca Supra; EPS = Extrato Polpa Supra; EEP = Extrato etanólico polpa; EEC = Extrato etanólico Casca; BHT= 2,6-bis(1,1-dimetiletil) -4-metilfenol.

Esses resultados estão em conformidade com o previamente descrito por Kourouma et al. (2019), que relataram que a concentração de carotenoides não se correlacionou positivamente com a atividade de sequestro do DPPH, indicando que este não seja o melhor método para medir a atividade antioxidante. Os resultados obtidos por Nobre et al. (2018) são discordantes do presente estudo, uma vez que estes autores utilizaram extrato metanólico de *Mauritia flexuosa*, e obtiveram

resultados semelhantes de atividade antioxidante com o emprego dos dois métodos DPPH e ABTS.

Estudos têm reportado a atividade antioxidante dos bioativos do buriti, no entanto, a maioria dos estudos avaliam apenas a polpa, e correlacionam a atividade biológica, na maioria das vezes, à concentração de componentes fenólicos totais (MILANEZ et al., 2016). Nessa pesquisa, a capacidade antioxidante foi descrita tanto nos extratos da polpa como da casca do buriti, fazendo-se uma correlação principalmente aos carotenoides. Do ponto de vista ecológico, os resultados obtidos contribuem para o aproveitamento da casca do buriti, que muitas vezes é descartada como resíduo. Os resultados reportados por Resende et al. (2019), corroboram com esse estudo, uma vez que, avaliaram a atividade antioxidante do exocarpo (IC_{50} = 413,1 g/g) e mesocarpo (IC_{50} = 1915,21 g/g) do buriti, correlacionando a atividade antioxidante com os carotenoides presentes pelo método de sequestro do radical DPPH. Esses resultados são inferiores aos obtidos no presente estudo, fato que pode ser explicado pelos métodos de obtenção das matrizes.

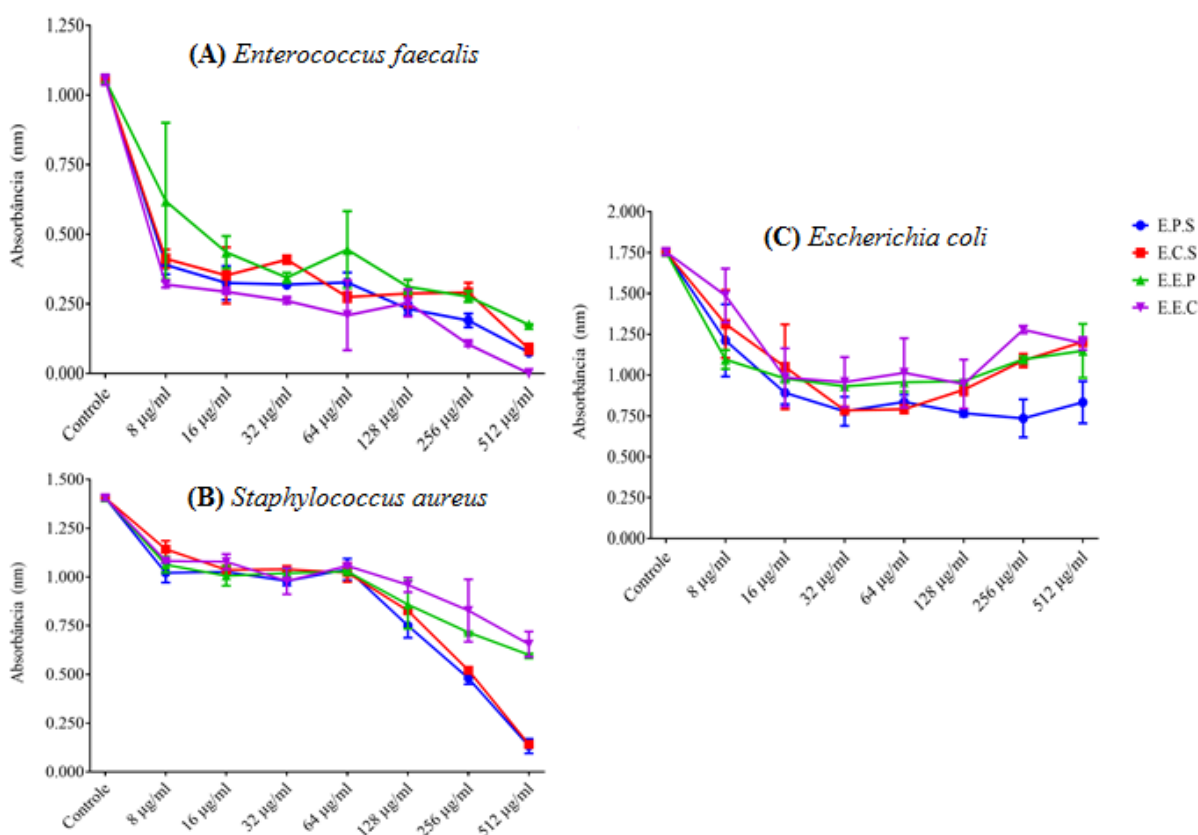
Do ponto de vista clínico, as atividades antioxidantes inerentes as matrizes anteriormente apresentadas são promissoras, uma vez que, a procura por matrizes de origem vegetal que tenham bioativos com potenciais atividades bioativas são de grande interesse para indústria farmacêutica e cosmética (SHEN et al., 2017; URIKURA; SUGAWARA; HIRATA, 2011). Além disso, a estratégia de recuperação é um ponto-chave para estas aplicações.

5.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS

Com a crescente incidência de resistência aos antibióticos, exploração de produtos naturais representa uma alternativa interessante, uma vez que eles podem modular a ação de antibióticos, aumentando ou diminuindo suas atividades (DUARTE et al., 2016).

A Figura 9 apresenta os resultados de inibição do crescimento bacteriano em diferentes concentrações dos extratos obtidos frente aos micro-organismos (A) *Enterococcus faecalis* (ATCC 4028), (B) *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e (C) *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Figura 9 - Inibição do crescimento de micro-organismos ATCC frente aos extratos da casca e polpa do buriti.



Nota: ECS= Extrato Casca Supra; EPS = Extrato Polpa Supra; EEP = Extrato etanólico polpa; EEC = Extrato etanólico Casca

A atividade antibacteriana nos extratos foi avaliada nas concentrações de 8 µg/mL a 512 µg/mL de extrato. Como apresentado na Figura 9, os parâmetros de absorbância foram fundamentais para avaliar criteriosamente as menores concentrações de inibição. Nesse sentido, considerando o controle positivo (100% de crescimento) foi possível visualmente e através da diminuição da absorbância, constatar que os extratos com SUPRAS foram ativos contra *Enterococcus faecalis* (ATCC 4028). Foi possível verificar atividade de todos os extratos nas concentrações de 512 e 256 µg/mL contra *E. faecalis*, com exceção do EEP, que visualmente não apresentou inibição.

Para *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), apenas os extratos com SUPRAS inibiram completamente o crescimento microbiano na concentração de 512 µg/mL, enquanto os extratos etanólicos da casca e polpa não apresentaram semelhante atividade. Sugere-se que, apesar de ser a mesma matriz em estudo, como os processos de obtenção dos extratos são diferentes, a recuperação de bioativos hidrofóbicos em especial o betacaroteno pode ter sido maior em ECS e EPS do que nos extratos etanólicos da casca e polpa. Além disso, deve-se destacar que os processos de obtenção de cada amostra passam por processos físico-químicos que podem levar a degradação de metabólitos fundamentais a atividade biológica (SANTOS, 2017). Outros aspectos importantes são o local de coleta e a sazonalidade, uma vez pode interferir diretamente na produção de metabólitos secundários (COUTINHO et al., 2010). Estudos anteriores com o buriti já demonstraram a sua capacidade moderada de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* (NONATO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2016).

Nos ensaios realizados com *Escherichia coli* (ATCC 25922), a concentração inibitória mínima de todos os extratos estavam acima das concentrações testadas (CIM ≥ 1024).

Entende-se que, concentrações mais altas devem ser usadas para que atividades bacteriostáticas ou bactericidas sejam alcançadas perante bactérias gram negativas, no entanto concentrações acima de valores testados no referido estudo, são inviáveis clinicamente, classificado como atividade moderada baixa (HOUGHTON et al., 2007). Uma alternativa é otimizar a atividade já conhecida (FIGUEREDO et al., 2013), uma vez que micro-organismos gram negativos, pela sua complexidade estrutural, presença de bomba de efluxo e outros mecanismos de escape, tendem a apresentar maior resistência a componentes antibacterianos (BUSH, 2002).

Consoante ao que foi apresentado no presente estudo, pode-se considerar os resultados clinicamente relevantes, visto que, Paim e Lorenzini, (2014) e Bassetti, Temperone e Astilean, (2013), afirmam que as bactérias tem criado uma resistência rápida aos antimicrobianos e que seu rápido desenvolvimento é preocupante para clínica, surgindo a necessidade emergencial de compostos capazes de combater essa resistência. Uma tentativa de contornar esse quadro é a pesquisa de novos antimicrobianos de origem vegetal (SIMONETTI et al., 2015). Sobretudo, *Staphylococcus aureus* apesar de compor a microbiota humana é uma das principais

bactérias patogênicas, responsáveis por graves infecções de pele e culminando a condições de risco de vida (BOTTEGA et al., 2014; SILVA; SILVA; OLIVEIRA, 2016).

Koolan et al. (2013), reportam atividade antibacteriana semelhante a desse estudo, com a polpa, folha e tronco do buriti, observando que concentrações maiores do extrato da polpa 100 µg/mL são necessárias pra inibição bacteriana quando comparado a 50 µg/mL do extrato da folha. O estudo ampliado de regiões do vegetal é sumariamente importante, uma vez que sabe-se que estruturas que estão mais expostas produzem mais metabólitos secundários para a defesa contra agressões físicas ou químicas, isso contribui pra o entendimento dos resultados da atividade antibacteriana desse estudo.

Dessa vez, o fato de todos os extratos terem atividade antibacteriana (Figura 9A), pode ser explicado principalmente pela presença de compostos fenólicos. Acredita-se que os compostos fenólicos interagiram com proteínas de superfície das bactérias através de pontes de hidrogênio que causam o aumento da permeabilidade na membrana celular e, conseqüentemente, a destruição da parede celular, principalmente quando se trata de bactérias gram-positivas, que estruturalmente são menos complexas que bactérias gram negativas, necessitando de concentrações mais baixas para inibição desse grupo (TIAN et al., 2009).

É importante destacar ainda a realização de testes moduladores da atividade de antimicrobianos já utilizados na prática clínica, que podem apresentar ação sinérgica aos extratos SUPRAS. A análise da atividade antibacteriana de ECS e EPS frente as cepas multirresistentes *Staphylococcus aureus* 10, *Pseudomonas aeruginosa* 24 e *Escherichia coli* 06 demonstrou que ambos os extratos apresentaram CIM ≥ 1024 para as três cepas. Esses resultados indicam que o uso de extratos de buriti como único agente antimicrobiano é proibitivo, diante da necessidade da utilização de concentrações elevadas desses extratos para se obter atividades clinicamente eficazes (HOUGHTON et al., 2007). A CIM do presente estudo (CIM ≥ 1024) é igual ao de estudo de Pereira et al. (2018), usando o óleo fixo de *M. flexuosa* e a mesma linhagem de bactérias multirresistentes.

A análise da atividade moduladora de ECS e EPS, potencializou a atividade dos antibióticos norfloxacino e gentamicina contra *S. aureus* 10, *P. aeruginosa* 24 e *E. coli* 06 (Figura 10). Percebe-se que, ECS e EPS modularam melhor a ação da quinolona norfloxacino. Indicando que o efeito modulador dos extratos varia de

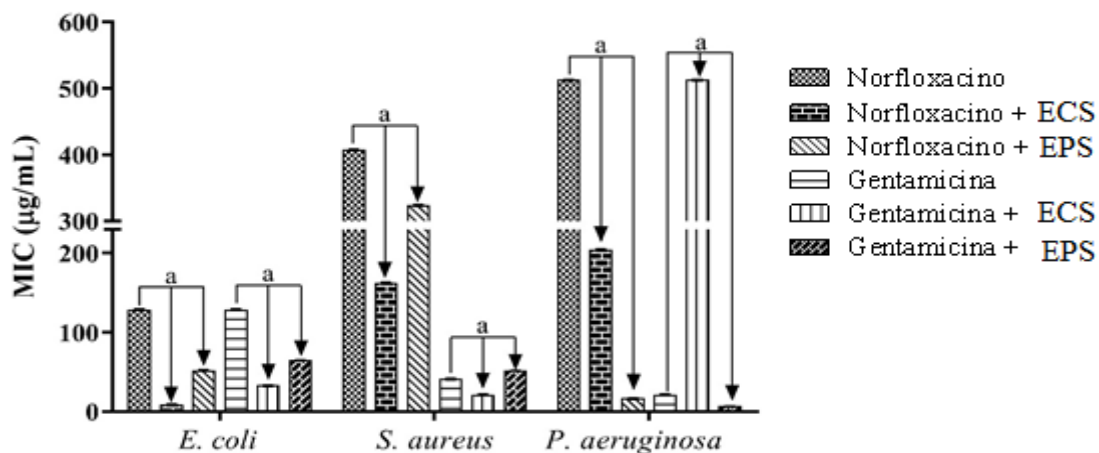
acordo com a cepa bacteriana e o antibiótico. Nonato et al. (2018), usando fração da polpa de buriti, encontraram atividade moduladoras significativas.

De forma geral, a atividade modificadora dos antibióticos por ECS e EPS, pode ser atribuída a presença de carotenóides e compostos fenólicos presentes nos extratos (Tabela 5). Acredita-se que bioativos hidrofóbicos, como os carotenóides, podem também aumentar a permeabilização na membrana celular de bactéria (SOUSA et al., 2015). Os compostos hidrofóbicos podem atuar como detergentes na estrutura anfipática das membranas celulares das bactérias, aumentando a permeabilidade da célula bacteriana permitindo a passagem dos antibióticos, reduzindo a concentração mínima necessária para atuação dos antibióticos (SARAIVA et al., 2011).

Os compostos fenólicos interagem com proteínas de superfície das bactérias através de pontes de hidrogênio, causando aumento da permeabilidade na membrana celular e, conseqüentemente, a destruição da parede celular, principalmente em bactérias gram-positivas, que apresentam parede celular menos complexas, necessitando de concentrações mais baixas para inibição (OUSSAID et al., 2017).

Foi evidenciado efeito antagônico na associação do ECS com gentamicina frente a *P. aeruginosa* 24, com diminuição significativa da atividade antibiótica (Figura 10). Um dos mecanismos que podem explicar este efeito antagônico é a quelação do antibiótico por constituintes dos extratos, inibindo assim a sua ação. Além disso, pode ter ocorrido competição entre a gentamicina e os componentes do extrato pelo mesmo local de ligação (BEZERRA et al., 2017).

Figura 10 - Efeito modulador de antibióticos dos extratos supras da casca e da polpa de buriti contra bactérias multirresistentes.



Nota: ECS= Extrato Casca Supra; EPS = Extrato Polpa Supra; (a) valor estatisticamente significativo com $p < 0,05$.

Desta maneira, os resultados mostram que a associação dos extratos obtidos com antibióticos pode diminuir a dose terapêutica necessária e, conseqüentemente, podem ser uma nova alternativa na redução dos efeitos colaterais produzidos por antibióticos como os aminoglicosídeos (FIGUEREDO et al., 2013). Atualmente, o uso inadequado dos antibióticos tem contribuído continuamente para o surgimento de resistência à terapêutica antimicrobiana convencional (PAIM; LORENZINI, 2014). Os extratos apresentam vários metabólitos secundários, que foram capazes de diminuir a concentração de antibióticos contra cepas multirresistentes, mostrando grande potencial para o desenvolvimento de novos antimicrobianos tópicos.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa é possível concluir que:

A utilização dos solventes eutéticos profundos mostrou resultados insatisfatórios quando utilizado como adjuvante no processo de extração de carotenoides totais da polpa e da casca. O emprego do etanol sem adjuvante apresentou maior rendimento na extração de carotenoides totais da casca e polpa do buriti. Além disso, a utilização de ultrassom aumentou o rendimento de carotenoides totais da polpa do buriti comparado à extração convencional.

O solvente supramolecular, apresentou excelente rendimento no processo de extração de carotenoides totais, com maiores rendimentos de betacaroteno nos extratos da casca e polpa do buriti.

Os extratos apresentaram atividade antioxidante por sequestro dos radicais DPPH e ABTS. Destaca-se, ainda, que os extratos da polpa e da casca do buriti em SUPRAS apresentaram as melhores atividades antioxidantes, com valores superiores ao padrão BHT.

Foram identificados a presença de cinco componentes fenólicos nos extratos: ácido gálico, catequina, ácido elágico, quercetina e eugenol, sendo o extrato da polpa com SUPRAS maior percentual de ácido gálico, e o extrato etanólico da casca com predominância de catequina.

O extrato da casca e polpa do buriti em SUPRAS e o extrato etanólico da casca do buriti apresentaram excelentes atividades na inibição do crescimento bacteriano das cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 4028).

O extrato da casca e polpa do buriti em SUPRAS, não apresentaram atividades clínicas relevantes contra cepas bacterianas multirresistentes, mas foram capazes de potencializar a ação gentamicina e norfloxacino, diminuindo a dose necessária para inibir micro-organismos multirresistentes.

Portanto, a extração dos compostos bioativos do buriti utilizando um solvente seguro, biocompatível, biodegradável e ambientalmente amigável como o SUPRAS, representa um potencial para desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, cosméticos e alimentos funcionais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, A. P.; CAPPER, G.; DAVIES, D. L.; RASHEED, R. K.; TAMBYRAJAH, V. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical Communications*, n. 1, p. 70-71, 2003.

ACCIONI, F.; GARCÍA-GÓMEZ, D.; GIRELA, E.; RUBIO, S. Abordagem de extração SUPRAS para determinação independente da matriz de estimulantes do tipo anfetamina por LC-MS / MS. *Talanta*, v. 182, p. 574-582, 2018.

ACEVEDO-QUINTERO, J. F.; ZAMORA-ABREGO, J. G. Role of mammals on seed dispersal and predation processes of *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) in the Colombian Amazon. *Revista de biologia tropical*, v. 64, n. 1, p. 5-15, 2016.

ALI, S. S.; AHSAN, H.; ZIA, M. K.; SIDDIQUI, T.; KHAN, F. H. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry*, v. 44, n. 3, p. e13145, 2020.

ALVES, N. C. Penetração de ativos na pele: revisão bibliográfica. *Revista Amazônia Science & Health*, v. 3, n. 4, p. 36-43. 2015.

ANASTAS, Paul T.; WARNER, John C. Principles of green chemistry. *Green chemistry: Theory and practice*, p. 29-56, 1998.

ANGIOLILLO, L.; DEL NOBILE, M. A.; CONTE, A. The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves. *Current Opinion in Food Science*, v. 5, p. 93-98, 2015.

ANUCIATO, T. P.; ROCHA-FILHO, P. A. Carotenoids and polyphenols in nutricosmetics, nutraceuticals, and cosmeceuticals. *Journal of Cosmetic Dermatology*, v.11, n.1, p. 51-54, 2012.

AQUINO, J. S.; PESSOA, D. C. N. P.; OLIVEIRA, C. E. V.; CAVALHEIRO, J. M. O.; STAMFORD, T. L. M. Processamento de biscoitos adicionados de óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.): uma alternativa para o consumo de alimentos fontes de vitamina A na merenda escolar. *Revista de Nutrição*, v. 25, n. 6, p. 765-774, 2012.

ARDA, O.; GÖKSÜGÜR, N.; TÜZÜN, Y. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clinics in dermatology*, v. 32, n. 1, p. 3-13, 2014.

ASHOKKUMAR, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles—an overview. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 18, n. 4, p. 864-872, 2011.

ASHOKKUMAR, M.; SUNARTIO, D.; KENTISH, S.; MAWSON, R.; SIMONS, L.; VILKHU, K.; VERSTEEG, C. K. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 9, n. 2, p. 155-160, 2008.

AZEVEDO, M. C. H.; RODRIGUEZ, A. D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Journal of food Composition and Analysis*, v. 17, n. 3-4, p. 385-396. 2004.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.

BADEJO, A. A. Elevated carotenoids in staple crops: The biosynthesis, challenges and measures for target delivery. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, v. 16, n. 2, p.553-562, 2018.

BALLESTEROS, G. A.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Supramolecular solvents in the extraction of organic compounds. A review. *Analytica Chimica Acta*, v. 677, n. 2, p. 108-130, 2010.

BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; LUNAR, L.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Hyphenating supramolecular solvents and liquid chromatography: tips for efficient extraction and reliable determination of organics. *Chromatographia*, v. 82, n. 1, p. 111-124. 2019.

BARBOSA, R. I.; Lima, A. D.; Mourão-Júnior, M. Biometria de frutos do buriti (*Mauritia flexuosa* LF-Arecaceae): produção de polpa e óleo em uma área de savana em Roraima. *Amazônia: ciência e desenvolvimento*, v. 5, n. 10, p. 71-85, 2010.

BASSETTI, M.; TEMPERONI, C.; ASTILEAN, A. New antibiotics for bad bugs: where are we. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 12, n. 22, p.1-15, 2013.

BATAGLION, G. A.; DA SILVA, F. M.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa*

Lf) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Research International*, v. 66, p. 396-400. 2014.

BATISTA, J. S.; OLINDA, R. G.; MEDEIROS, V. B.; RODRIGUES, C. M. F.; OLIVEIRA, A. F.; PAIVA, E. S.; FREITAS, C. I. A.; MEDEIROS, A. C. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. *Ciência Rural*, v. 42, n. 1, p. 136-141. 2012.

BEZERRA, C. F.; CAMILO, C. J.; DO NASCIMENTO SILVA, M. K.; DE FREITAS, T. S.; RIBEIRO-FILHO, J.; COUTINHO, H. D. M. Vanillin selectively modulates the action of antibiotics against resistant bacteria. *Microbial pathogenesis*, v. 113, p. 265-268. 2017.

BHATTACHARYYA, T. K.; HSIA, Y.; WEEKS, D. M.; DIXON, T. K.; LEPE, J.; THOMAS, J. R. Association of diet with skin histological features in UV-B–exposed mice. *JAMA facial plastic surgery*. v. 19, n. 5, p. 399-405, 2017.

BI, W.; TIAN, M.; ROW, K. H. Evaluation of alcohol-based deep eutectic solvent in extraction and determination of flavonoids with response surface methodology optimization. *Journal of Chromatography A*, v. 1285, p. 22-30, 2013.

BI, W.; TIAN, M.; ZHOU, J.; ROW, K. H. Task-specific ionic liquid-assisted extraction and separation of astaxanthin from shrimp waste. *Journal of Chromatography B*, v. 878, n. 24, p. 2243-2248, 2010.

BIESALSKI, H. K.; HEMMES, C.; HOPFENMULLER, W.; SCHMID, C.; GOLLNICK, H. P. Efeitos da exposição controlada da luz solar sobre os níveis plasmáticos e cutâneos de β -caroteno. *Free radical research*, v. 24, n. 3, p. 215-224, 1996.

BIRINCI, Y.; NIAZI, J. H.; AKTAY-ÇETIN, O.; BASAGA, H. Quercetin in the form of a nano-antioxidant (QTiO₂) provides stabilization of quercetin and maximizes its antioxidant capacity in the mouse fibroblast model. *Enzyme and Microbial Technology*, p. 109559. 2020.

BOGACZ-RADOMSKA, L; HARASYM, J. β -Carotene—properties and production methods. *Food Quality and Safety*, v. 2, n. 2, p. 69-74, 2018.

BOHJANEN, K. Estrutura e funções da pele. In: SOUTOR, C.; HORDINSKY, M. *Dermatologia Clínica*. New York: Mc Graw Hill Education, 1 ed, 2015. p. 1-5.

BOTTEGA, A.; RODRIGUES, M. A.; CARVALHO, F. A.; WAGNER, T. F.; LEAL, I. A. S.; SANTOS, S. O. RAMPELOTTO, R. F. HORNER, R. Evaluation of constitutive and inducible resistance to clindamycin in clinical samples of *Staphylococcus aureus* from a tertiary hospital. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 47, n. 5, p. 589-592, 2014.

BRENNER, M.; HEARING, V. J. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochemistry and photobiology*, v. 84, n. 3, p. 539-549, 2008.

BROWNLOW, B.; NAGARAJ, V. J.; NAYEL, A.; JOSHI, M.; ELBAYOUMI, T. Development and in vitro evaluation of vitamin E-enriched nanoemulsion vehicles loaded with genistein for chemoprevention against UVB-induced skin damage. *Revista de ciências farmacêuticas*, v. 104, n. 10, p. 3510-3523, 2015.

CABALLO, C.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. Supramolecular solvents for green chemistry. In: *The application of green solvents in separation processes*. Elsevier, p. 111-137. 2017.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI, C. T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* Lf) from the Cerrado and Amazon biomes. *Food Chemistry*, v. 177, p. 313-319, 2015.

CARDOSO, S. L. Fotofísica de carotenóides e o papel antioxidante de β -caroteno. *Química nova*, v. 20, n. 5, p. 535-540, 1997.

CARDOSO, W. S.; PAES, M. C. D.; GALVÃO, J. C. C.; RIOS, S. D. A.; GUIMARÃES, P. E. D. O.; SCHAFFERT, R. E.; BORÉM, A. Variabilidade de genótipos de milho quanto à composição de carotenoides nos grãos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 44, n. 2, p. 164-173, 2009.

CARNEIRO, T. B.; CARNEIRO, J. G. M. Frutos e polpa desidratada Buriti (*Mauritia flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. *Revista Verde*, v.6, n. 2, p.105-111, 2011.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and chemical toxicology*, v. 51, p. 15-25. 2013.

CARRANCO, J. M. E.; CALVO, C. M.; PÉREZ-GIL, R. F. Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Latin American Nutrition Files*. v. 61, n. 3, p. 233-241, 2011.

CARRERA, C.; RUIZ-RODRÍGUEZ, A.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica chimica acta*, v. 732, p. 100-104, 2012.

CAZZONELLI, C. I.; CUTTRISS, A. J.; COSSETTO, S. B.; PYE, W.; CRISP, P.; WHELAN, J.; POGSON, B. J. Regulação da composição carotenóide e ramificação de brotações em *Arabidopsis* por uma histona metiltransferase modificadora de cromatina, SDG8. *The Plant Cell*, v. 21, n. 1, p. 39-53, 2009.

CHATZILAZAROU, A.; KATSOYANNOS, E.; LAGOPOULOU, M.; TSAKNIS, J. Application of cloud point extraction with the aid of Genapol X-080 in the pre concentration of lycopene and total carotenoids from red fleshed orange. *Ernährung/Nutrition*, v. 35, p. 5-13. 2011.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 34, p. 540-560. 2017.

CHEMAT, F.; TOMAO, V.; VIROT, M. Ultrasound-assisted extraction in food analysis. *Handbook of food analysis instruments*, p. 85-103. 2008.

CHEN, C. O.; SMITH, A.; LIU, Y.; DU, P.; BLUMBERG, J. B.; GARLICK, J. Photoprotection by pistachio bioactives in a 3-dimensional human skin equivalent tissue model. *International journal of food sciences and nutrition*, v. 68, n. 6, p. 712-718. 2017.

CHEN, F.; LI, H. B.; WONG, R. N. S.; JI, B.; JIANG, Y. Isolation and purification of the bioactive carotenoid zeaxanthin from the microalga *Microcystis aeruginosa* by

high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 1064, n. 2, p. 183-186. 2005.

CHUYEN, H. V.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D.; GOLDING, J. B.; PARKS, S. E. Microwave-assisted extraction and ultrasound-assisted extraction for recovering carotenoids from Gac peel and their effects on antioxidant capacity of the extracts. *Food science & nutrition*, v. 6, n. 1, p. 189-196, 2018.

CHUYEN, H. V.; ROACH, P. D.; GOLDING, J. B.; PARKS, S. E.; NGUYEN, M. H. Optimisation of extraction conditions for recovering carotenoids and antioxidant capacity from Gac peel using response surface methodology. *International journal of food science & technology*, v. 52, n. 4, p. 972-980, 2017a.

CHUYEN, H. V.; TRAN, X. T.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D.; GOLDING, J. B.; PARKS, S. E. Yield of carotenoids, phenolic compounds and antioxidant capacity of extracts from Gac peel as affected by different solvents and extraction conditions. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, v. 4, n. 1, p. 87-91, 2017b.

CIVAN, M.; KUMCUOGLU, S. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoid and capsaicinoid from the pulp of hot pepper paste based on the bio-refinery concept. *Food Science and technology*, v. 113, 2019.

CORDEIRO, L. M. C.; DE ALMEIDA, C. P.; IACOMINI, M. Unusual linear polysaccharides: (1→ 5)- α -l-Arabinan,(1→ 3)-(1→ 4)- α -d-glucan and (1→ 4)- β -d-xylan from pulp of buriti (*Mauritia flexuosa*), an edible palm fruit from the Amazon region. *Food chemistry*, v. 173, p. 141-146, 2015.

COSTA, A. C. F. *Estudo das propriedades termofísicas dos solventes eutéticos e desenvolvimento de novas membranas sustentáveis para a separação de CO₂*. 2016. 90f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química e Bioquímica) – Universidade Nova Lisboa. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa, 2016.

COUTINHO, H. D.; COSTA, J. G.; FALCAO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; LIMA, E. O. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, v. 33, n. 6, p. 467-471. 2010.

COUTINHO, H.; COSTA, J.; FALCÃO-SILVA, V.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.; LIMA, E. Fruits to potentiate the antibiotic activity: the effect of *Eugenia uniflora* and *Eugenia jambolanum* L. against MRSA. *Acta alimentaria*, v. 41, n. 1, p. 67-72, 2012.

CRAVOTTO, G.; BICCHI, C.; MANTEGNA, S.; BINELLO, A.; TOMAO, V.; CHEMAT, F. Extraction of kiwi seed oil: Soxhlet versus four different non-conventional techniques. *Natural product research*, v. 25, n. 10, p. 974-981, 2011.

CUI, Q. Extração de genistina, genisteína e apigenina com raízes de guandu, baseada em solvente eutético profundo. *Tecnologia de Separação e Purificação*, v. 150, p. 63-72, 2015.

CUNHA, M. A. E.; NEVES, R. F.; SOUZA, J. N. S.; FRANÇA, L. F.; ARAÚJO, M. E.; BRUNNER, G.; MACHADO, N. T. Supercritical adsorption of buriti oil (*Mauritia flexuosa* Mart.) in γ -alumina: A methodology for the enriching of anti-oxidants. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 66, p. 181-191, 2012.

DA COSTA, J. G.; RODRIGUES, F. F.; ANGÉLICO, E. C.; PEREIRA, C. K.; SOUZA, E. O. D.; CALDAS, G. F.; SANTOS, P. F. D. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 18, n. 4, p. 583-586, 2008.

DA PORTO, C.; PORRETTO, E.; DECORTI, D. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 20, n. 4, p. 1076-1080, 2013.

DA SILVA GRILLO, V. T. R.; GONÇALVES, T. G.; JÚNIOR, J. C.; PANIÁGUA, N. C.; TELES, C. B. G. Incidência bacteriana e perfil de resistência a antimicrobianos em pacientes pediátricos de um hospital público de Rondônia, Brasil. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, v. 34, n. 1, 2013.

DA SILVA, G. P.; MACK, M.; CONTIERO, Jonas. Glycerol: a promising and abundant carbon source for industrial microbiology. *Biotechnology advances*, v. 27, n. 1, p. 30-39, 2009.

- DAI, Y.; SPRONSEN, J. V.; WITKAMP, G. J.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Ionic liquids and deep eutectic solvents in natural products research: mixtures of solids as extraction solvents. *Journal of natural products*, v. 76, n. 11, p. 2162-2173, 2013.
- DAL PRÁ, V.; LUNELLI, F. C.; VENDRUSCOLO, R. G.; MARTINS, R.; WAGNER, R.; LAZZARETTI JR, A. P.; DA ROSA, M. B. Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from palm pressed fiber with high antioxidant and photoprotective activities. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 36, p. 362-366, 2017.
- DASGUPTA, N.; DE, B. Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food chemistry*, v. 101, n. 2, p. 471-474, 2007.
- DE ANDRADE, L. M.; KESTEKOGLOU, I.; CHARALAMPOPOULOS, D.; CHATZIFRAGKOU, A. Supercritical Fluid Extraction of Carotenoids from Vegetable Waste Matrices. *Molecules*, v. 24, n. 3, p. 466, 2019.
- DE OLIVEIRA, C. J.; ORLANDA, J. F. F. Heat stability and effect of pH on enzyme activity of polyphenol oxidase in buriti (*Mauritia flexuosa* Linnaeus f.) fruit extract. *Food chemistry*. v. 233, p. 159-163. 2017.
- DENG, M.; LI, D.; ZHANG, Y.; ZHOU, G.; LIU, W.; CAO, Y.; ZHANG, W. Protective effect of crocin on ultraviolet B-induced dermal fibroblast photoaging. *Molecular medicine reports*, v. 18, n. 2, p. 1439-1446, 2018.
- DEY, S.; RATHOD, V. K. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 20, n. 1, p. 271-276, 2013.
- DJUIDJE, E. N.; DISSERTTE, V.; BINO, A.; BENETTI, S.; BALZARINI, J.; LIEKENS, S.; MANFREDINI, S.; VERTUANI, S.; BALDISSERETTO, A. A Multitarget Approach toward the Development of 8-Substituted Purines for Photoprotection and Prevention of UV-Related Damage. *Chemistry Enabling Drug Discovery*. v. 12, n. 10, p. 760-769. 2017.
- DUARTE, A.E.; MENEZES, I. R. A.; BRAGA, M. F. B. M.; LEITE, N. F.; BARROS, L. M.; WACZUK, E. P et al. Antimicrobial Activity and Modulatory Effect of Essential Oil from the Leaf of *Rhaphiodon echinus* (Nees & Mart) Schauer on Some Antimicrobial Drugs. *Molecules*, v. 21, n. 6, p. 743, 2016.

DUARTE, L. J. N.; CANSELIER, J. P. Extraction of homologous and isomeric organic compounds by two-phase aqueous extraction. *Quimica nova*, v. 28, n. 3, p. 426-432. 2005.

DUDONNE, S.; VITRAC, X.; COUTIERE, P.; WOILLET, M.; MÉRILLON, J. M. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 57, n. 5, p. 1768-1774. 2009.

EARLE, M. J.; KATDARE, S. P.; SEDDON, K. R. Paradigm confirmed: the first use of ionic liquids to dramatically influence the outcome of chemical reactions. *Organic letters*, v. 6, n. 5, p. 707-710, 2004.

EL-ABBASSI, A.; KIAI, H.; RAITI, J.; HAFIDI, A. Cloud point extraction of phenolic compounds from pretreated olive mill wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 2, n. 3, p. 1480-1486. 2014.

EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; MCGARVEY, D. J.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, T. G.; YOUNG, A. J. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Archives of biochemistry and biophysics*, v. 430, n. 1, p. 37-48. 2004.

ELVIRA-TORALES L., GARCÍA-ALONSO J.; PERIAGO-CASTÓN, M. J. Nutritional Importance of Carotenoids and Their Effect on Liver Health: A Review. *Antioxidants (Basel)*, v. 7, n. 229, p. 2-23, 2019.

ENCISO, G. J.; PÉREZ, J. A.; POMA, E. G.; YOSHIZAWA, A. F.; ARÉVALO, O. R.; PEÑA, D. A.; BENAVIDES, N. E.; VALDIVIA, E.; BAYONA, R.; LANDA, K. N. Antioxidant activity of hydroalcoholic extract of medicinal plants and stimulation of fibroblast proliferation. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, v. 76, n. 1, p. 73-79, 2010.

FAN, F.; LI, Y.; LIU, Y.; SHAO, L.; YU, J.; LI, Z. Overexpression of klotho in adipose-derived stem cells protects against UVB-induced photoaging in co-cultured human fibroblasts. *Molecular medicine reports*, v. 18, n. 6, p. 5473-5480. 2018.

FARAJI, M. Determination of some red dyes in food samples using a hydrophobic deep eutectic solvent-based vortex assisted dispersive liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 1591, p. 15-23, 2019.

FARIAS, L. A.; FÁVARO, D. I. T. Vinte anos de química verde: conquistas e desafios. *Química Nova*. v. 34, n. 6, p. 1089-1093. 2011.

FAUSTINO PEREIRA, Y.; DO SOCORRO, C. M.; RELISON, T. S.; ESMERALDO, R. J.; FERNANDES, G. R. F.; DE SÁ, B. F. M. K.; DE SOUSA, E. O. Modulation of the Antibiotic Activity by the *Mauritia flexuosa* (Buriti) Fixed Oil against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) and Other Multidrug-Resistant (MDR) Bacterial Strains. *Pathogens*, v. 7, n. 4, p. 98. 2018.

FERNANDES, V.; D'LIMA, A.; KUMAR, M. V.; FERNANDES, J.; FERNANANDES, R. In vitro Antioxidant Properties of Indian Capsicum Species-A Comparative Study. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, v. 12, n. 10, p. 4785-4789. 2019.

FERREIRA, L. S.; SANTOS, M. R. P.; FIGUEIRA, L. C.; NAGATA, K. M. R.; REMÉDIOS, C. M. R.; SOUSA, F. F. Caracterização de óleos vegetais da Amazônia por espectroscopia de absorção. *Scientia plena*, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2017.

FIGUEREDO, F. G.; FERREIRA, E. O.; LUCENA, B. F.; TORRES, C. M.; LUCETTI, D. L.; LUCETTI, E. C.; COLARES, A. V. Modulation of the antibiotic activity by extracts from *Amburana cearensis* AC Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. *BioMed Research International*, v. 2013. 2013.

FORNI, M. F. P. A. *Bases moleculares da depleção de glutatona sobre a pontencialidade, diferenciação e envelhecimento de células-tronco de pele*. 2013. 183f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

FRANÇA, L. F.; REBER, G.; MEIRELES, M. A. A.; MACHADO, N. T.; BRUNNER, G. Supercritical extraction of carotenoids and lipids from buriti (*Mauritia flexuosa*), a fruit from the Amazon region. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 14, n.3, p. 247-256. 1999.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in lipid research*, v. 43, n. 3, p. 228-265, 2004.

FU, N.; LI, L.; LIU, K.; CHAN, K. K.; LI, J.; ZHU, T.; LI, J.; TANG, B. A choline chloride-acrylic acid deep eutectic solvent polymer based on Fe₃O₄ particles and MoS₂ sheets (poly (ChCl-AA DES)@ Fe₃O₄@ MoS₂) with specific recognition and good antibacterial properties for β -lactoglobulin in milk. *Talent*, v. 197, p. 567-577. 2019.

FUJITA, A.; BORGES, K.; CORREIA, R.; FRANCO, B. D. G. M.; GENOVESE, M. I. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). *Food Research International*, v. 54, n.1, p. 495-500, 2013.

GALINARI, E.; ALMEIDA-LIMA, J.; MACEDO, G. R.; MANTOVANI, H. C.; ROCHA, H. A. O. Antioxidant, antiproliferative, and immunostimulatory effects of cell wall α -d-mannan fractions from *Kluyveromyces marxianus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 109, p. 837-846, 2018.

GAMMONE, M. A.; RICCIONI, G.; D'ORAZIO, N. Marine carotenoids against oxidative stress: effects on human health. *Marine Drugs*, v. 13, n. 10, p. 6226-6246. 2015.

GANDHI, A. P.; JOSHI, K. C.; PARILHAR, V. S.; SRIVASTAV, D. C.; RAGHVNADH, P.; KAWLKAR, J.; JAIN, K. TRIPATHI, R. N. Studies on alternative solvents for the extraction of oil-I soybean. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 38, n. 3, p. 369–375, 2003.

GARCÍA, A.; RODRIGUEZ, J. E.; RODRIGUEZ, G. G.; RIOS, J. J.; FERNANDEZ, B. J. Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvents (DESS). *Food chemistry*. v. 197, p. 554-561. 2016.

GARCÍA, P. A.; LUNAR, L.; RUBIO, S.; PÉREZ, B. D. Decanoic acid reverse micelle-based coacervates for the microextraction of bisphenol A from canned vegetables and fruits. *Analytica chimica acta*, v. 617, n.1, p. 51-58, 2008.

GHANDI, K. A Review of Ionic Liquids, Their Limits and Applications. *Green and Sustainable Chemistry*, v. 44, p. 44-53, 2014.

GIUFFRIDA, D.; TORRE, G.; DUGO, P.; DUGO, G. Determination of the carotenoid profile in peach fruits, juice and jam. *Fruits*, v. 68, n. 1, p. 39-44. 2013.

GODOY, H. T.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Buriti (*Mauritia vinifera* Mart.), uma fonte riquíssima de pró-vitamina A. *Arq Biol Tec*, v. 38, p. 109-120. 1995.

GU, T.; ZHANG, M.; TAN, T.; CHEN, J.; LI, Z.; ZHANG, Q.; QIU, H. Deep eutectic solvents as novel extraction media for phenolic compounds from model oil. *Chemical Communications*. v. 50, n. 79, p. 11749-11752, 2014.

HÄCKL, K.; KUNZ, W. Alguns aspectos dos solventes verdes. *Comptes Rendus Chimie*, v. 21, n. 6, p. 572-580, 2018.

HERNÁNDEZ-CORROTO, E.; PLAZA, M.; MARINA, M. L.; GARCÍA, M. C. Sustainable extraction of proteins and bioactive substances from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) using pressurized liquids and deep eutectic solvents. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 60, p. 102-314, 2020.

HERRERO, M.; CASTRO, P. M.; MENDIOLA, J. A.; IBAÑEZ, E. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 43, p. 67-83. 2013.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 110, n. 3, p. 391-400. 2007.

JADHAV, D.; REKHA, B. N.; GOGATE, P. R.; RATHOD, V. K. Extraction of vanillin from vanilla pods: A comparison study of conventional soxhlet and ultrasound assisted extraction. *Journal of food engineering*, v. 93, n. 4, p. 421-426, 2009.

JAVADPOUR, M. M.; JUBAN, M. M.; LO, W. S.; BISHOP, S. M.; ALBERTY, J. B.; MANN, C. M.; MARKHAN, J. L. A new method for determine the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*. 84, 538–544. 1996.

JENSEN, W. B. The origin of the Soxhlet extractor. *Journal of chemical education*, v. 84, n. 12, p. 1913, 2007.

JOSEPH, J. D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters Collaborative study. *Journal of International, Arlington*. v. 75, n. 3, p. 488-506, 1992.

KALWAT, J. I. Carotenoids: In Skin's Defense. *Cosmetics & Toiletries*. v. 132, n. 4, p.72-81, 2018.

KIM, Y. S.; GONG, X.; RUBIN, L. P.; CHOI, S. W.; KIM, Y. β -Carotene 15, 15'-oxygenase inhibits cancer cell stemness and metastasis by regulating differentiation-related miRNAs in human neuroblastoma. *The Journal of nutritional biochemistry*, v. 69, p. 31-43, 2019.

KLANČNIK, A.; PISKERNIK, S.; JERŠEK, B.; MOŽINA, S. S. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of microbiological methods*, v. 81, n. 2, p. 121-126, 2010.

KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; GOZZO, F. C.; SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. *Research International Food*. v. 51, n. 2, p. 467-473, 2013.

KOOLEN, H. H. F.; SOARES, E. R.; SILVA, F. M. A. D.; ALMEIDA, R. A. D.; SOUZA, A. D. L. D.; MEDEIROS, L. S. D.; SOUZA, A. Q. L. D. An antimicrobial alkaloid and other metabolites produced by *Penicillium* sp. An endophytic fungus isolated from *Mauritia flexuosa* L. f. *Química Nova*, v. 35, n. 4, p. 771-774, 2012.

KOUROUMA, V.; MU, T. H.; ZHANG, M.; SUN, H. N. Effects of cooking process on carotenoids and antioxidant activity of orange-fleshed sweet potato. *Food Science and technology*, v. 104, p. 134-141. 2019.

KRINSKY, N. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 7, n. 6, p. 617-635, 1989.

- KUMARAN, A.; KARUNAKARAN, R. J. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Scien and Technology*, v. 40, n. 2, p. 344-352, 2007.
- KUMCUOGLU, S.; YILMAZ, T.; TAVMAN. Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes. *Journal of food science and technology*, v. 51, n. 12, p. 4102-4107, 2014.
- LEÃO, K. M. M.; REIS, L. V. C.; SPERANZA, P.; RODRIGUES, A. P.; RIBEIRO, A. P. B.; MACEDO, J. A.; MACEDO, G. A. Physicochemical characterization and antimicrobial activity in novel systems containing buriti oil and structured lipids nanoemulsions. *Biotechnology Reports*, v. 24, p. e00365, 2019.
- LEE, Y. R.; ROW, K. H. Comparison of ionic liquids and deep eutectic solvents as additives for the ultrasonic extraction of astaxanthin from marine plants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 39, p. 87-92. 2016.
- LEI, D.; HUANG, Y.; XIE, H.; YI, Y.; LONG, J.; LIN, S.; HUANG, C. JIAN, D.; LI, J. Fluorofenidone inhibits UV-A induced senescence in human dermal fibroblasts via the mammalian target of rapamycin-dependent SIRT1 pathway. *The Journal of Dermatology*, v. 45, n. 7, p. 791-798. 2018.
- LEVIS, C.; COSTA, F. R.; BONGERS, F.; PEÑA-CLAROS, M.; CLEMENT, C. R.; JUNQUEIRA, A. B.; NEVES, E. G.; TAMANAHA, E. K. Persistent effects of pre-columbian plant domestication on amazonian forest composition. *Science*, v. 355, n. 6328, p. 925-931, 2017.
- LI, J.; XIE, J.; YU, J.; LV, J.; ZHANG, J.; WANG, X.; ZHU, D. Reversed-phase high-performance liquid chromatography for the quantification and optimization for extracting 10 kinds of carotenoids in pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 65, n. 38, p. 8475-8488, 2017.
- LI, N.; WANG, Y.; XU, K.; HUANG, Y.; WEN, Q.; DING, X. Development of green betaine-based deep eutectic solvent aqueous two-phase system for the extraction of protein. *Talanta*, v. 152, p. 23–32, 2016.

LI, X.; WANG, M.; ZHAO, J.; GUO, H.; GAO, X.; XIONG, Z.; ZHAO, L. Ultrasound-assisted emulsification liquid phase microextraction method based on deep eutectic solvent as extraction solvent for determination of five pesticides in traditional Chinese medicine. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 166, p. 213-221.

2019.

LI, Y.; FABIANO, T. A. S.; TOMAO, V.; CRAVOTTO, G.; CHEMAT, F. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids based on the bio-refinery concept using sunflower oil as an alternative solvent. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 20, n.1, p. 12-18, 2013.

LINS, Roseana Telles. *Determinação de tocoferóis e carotenoides em frutas amazônicas: Implantação de uma metodologia*. 2006. 80 f., il. Dissertação de mestrado (ciência e tecnologia de alimentos) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2006.

LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C. *Technologie pflanzlicher Arzneizubereitungen: mit 67 Tabellen*. Wiss. Verlag-Ges.1984.

LIU, W.; ZHANG, K.; YANG, G.; YU, J. A highly efficient microextraction technique based on deep eutectic solvent formed by choline chloride and p-cresol for simultaneous determination of lignans in sesame oils. *Food chemistry*, v. 281, p. 140-146, 2019.

LLORENTE, B.; MARTINEZ-GARCIA, J.; STANGE, C.; RODRIGUEZ-CONCEPCION, M. Illuminating colors: regulation of carotenoid biosynthesis and accumulation by light. *Current opinion in plant biology*, v. 37, p. 49-55, 2017.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.

LORDÊLO, C. S. M.; SILVA, C. R.; DOS SANTOS, S. A.; BELLO, K. M. G. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.

LORENZI, H.; SOUZA, H. D.; COSTA, J. D. M.; CERQUEIRA, L. D.; FERREIRA, E. (2004). *Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum.

LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; RODRIGUES, A. T.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

MA, C. H.; LIU, T. T.; YANG, L.; ZU, Y. G.; CHEN, X.; ZHANG, L.; ZHAO, C. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of essential oil and biphenyl cyclooctene lignans from *Schisandra chinensis* Baill fruits. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, n. 48, p. 8573-8580, 2011.

MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Stability and fatty acids composition evaluation in bottled butter craftsmanly produced. *Journal of the Adolfo Lutz Institute*, v. 68, n. 2, p. 201-208, 2009.

MAHDAVI, B.; HOSSEYNI-TABAR, S. M.; REZAEI-SERESHT, E.; REZAEI-SERESHT, H.; FALANJI, F. Synthesis and biological evaluation of novel hybrid compounds derived from gallic acid and the 2-aminothiophene derivatives. *Journal of the Iranian Chemical Society*, v. 17, n. 4, p. 809-815. 2020.

MAMIDIPALLY, P. K.; LIU, S. X. First approach on rice bran oil extraction using limonene. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 106, n. 2, p. 122-125, 2004.

MARCHETTI, N.; GIOVANNINI, P. P.; CATANI, M.; PASTI, L.; CAVAZZINI, A. Thermodynamic Insights into the Separation of Carotenoids in Reversed-Phase Liquid Chromatography. *Journal International of analytical chemistry*, v. 2019, p. 1-7, 2019.

MARTINS, M. A.; PAGLIARI, A. B.; BELLADONA, A. L.; TIER, A. Z.; MEYER, A. R.; RODRIGUES, L. V.; ZANATTA, N. Supramolecular self-assembly and

thermodynamic properties of 5-aryl-1-(1, 1-Dimethylethyl)-1H-Pyrazoles in the crystalline state. *Journal of Molecular Structure*, v. 1195, p. 570-581, 2019.

MAYNE, S. T.; CARTMEL, B.; SCARMO, S.; JAHNS, L.; ERMAKOV, I. V.; GELLERMANN, W. Resonance Raman spectroscopic evaluation of skin carotenoids as a biomarker of carotenoid status for human studies. *Archives of biochemistry and biophysics*, v. 539, n. 2, p. 163-170, 2013.

MEDEIROS DE AZEVEDO, W.; FERREIRA, R. O. L.; ALVES ALCÂNTARA, M.; TRIBUZY DE MAGALHÃES C. A. M.; FLORENTINO, S. C.; DAMASCENO, K. S.; KELLY DE ARAÚJO, N.; SOUSA JUNIOR, F. C. D. Physicochemical characterization, fatty acid profile, antioxidant activity and antibacterial potential of cacay oil, coconut oil and cacay butter. *PloS one*, v. 15, n. 4, p. 232224. 2020.

MESQUITA, S. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; SERVULO, E. F. C. Carotenoids: Properties, Applications and Market. *Revista Virtual De Quimica*, v. 9, n. 2, p. 672-688, 2017.

MILANEZ, J. T.; NEVES, L. C.; DA SILVA, P. M. C.; BASTOS, V. J.; SHAHAB, M.; COLOMBO, R. C.; ROBERTO, S. R. Pre-harvest studies of buriti (*Mauritia flexuosa* LF), a Brazilian native fruit, for the characterization of ideal harvest point and ripening stages. *Scientia horticulturae*, v. 202, p. 77-82, 2016.

MORRISON, K. M.; MIESEGAES, G. R.; LUMPKIN, E. A.; MARICICH, S. M. Mammalian Merkel cells are descended from the epidermal lineage. *Developmental biology*, v. 336, n. 1, p. 76-83, 2009.

MOURA-FILHO, J. M. *Preparado de buriti (Mauritia flexuosa L): produção, caracterização e aplicação em leite fermentado*. 2017. 126f. Tese (Doutorado em Engenharia e ciência de alimentos) - Universidade Estadual de São Paulo, São José do Rio Preto, 2017.

MUKHERJEE, P.; PADHAN, S. K.; DASH, S.; PATEL, S.; MISHRA, B. K. Clouding behaviour in surfactant systems. *Advances in colloid and interface science*, v. 162, n. 1-2, p. 59-79. 2011.

NAM, M. W.; ZHAO, J.; LEE, M. S.; JEONG, J. H.; LEE, J. Enhanced extraction of bioactive natural products using tailor-made deep eutectic solvents: application to flavonoid extraction from *Flos sophorae*. *Green Chemistry*, v. 17, n. 3, p. 1718-1727, 2015.

NAMKOONG, J.; KERN, D.; KNAGGS, H. Assessment of Human Skin Gene Expression by Different Blends of Plant Extracts with Implications to Periorbital Skin Aging. *Journal International of molecular sciences*, v. 19, n. 11, p. 1-14, 2018.

NAVIGLIO, D.; PIZZOLONGO, F.; ROMANO, R.; FERRARA, L.; NAVIGLIO, B.; SANTINI, A. An innovative solid-liquid extraction technology: use of the Naviglio Extractor for the production of lemon liquor. *African Journal of Food Science*, v. 1, n. 4, p. 042-050, 2007.

NAZZAL, S.; SMALYUKH, I. I.; LAVRETOVICH, O. D.; KHAN, M. A. Preparation and in vitro characterization of a eutectic based semisolid self-nanoemulsified drug delivery system (SNEDDS) of ubiquinone: mechanism and progress of emulsion formation. *International journal of pharmaceutics*, v. 235, n. 1-2, p. 247-265, 2002.

NOBRE, C.; SOUSA, E. O.; CAMILO, C. J.; MACHADO, J. F.; SILVA, J. M. F. L.; FILHO, J. R.; COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M. Antioxidative effect and phytochemical profile of natural products from the fruits of “babaçu” (*Orbignia speciose*) and “buriti” (*Mauritia flexuosa*). *Food and chemical toxicology*, v. 121, p. 423-429. 2018.

NÓBREGA, E. M.; OLIVEIRA, E. L.; GENOVESE, M. I.; CORREIA, R. T. P. The impact of hot air drying on the physical-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Maliphigia emarginata*) residue. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 39, p. 131-141, 2015.

NOH, D.; CHOI, J. G.; HUH, E.; OH, M. S. Tectorigenin, a Flavonoid-Based Compound of Leopard Lily Rhizome, Attenuates UV-B-Induced Apoptosis and Collagen Degradation by Inhibiting Oxidative Stress in Human Keratinocytes. *Nutrients*, v. 10, n. 12, p. 2-10, 2018.

NONATO, C. F. A.; LEITE, D.O. D.; PEREIRA, R. C.; BOLIGON, A. A.; RIBEIRO-FILHO, J.; RODRIGUES, F. F. G et al. Chemical analysis and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of fruit fractions of *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae). *PeerJ- Life & Environment*, 6:e5991, 2018.

NOVO, R.; AZEVEDO, P. S.; MINICUCCI, M. F.; LEONARDO, A.; ZORNOFF, M.; PAIVA, A. R. S. Efeito do betacaroteno sobre o estresse oxidativo e a expressão de conexina 43 cardíaca. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 101, n. 3, p. 233-239, 2013.

NUNOMURA, Rita de cássia saraiva. *Desreplicação de substâncias fenólicas dos frutos de mauritia flexuosa Lf por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas*. 2014. 113 f., il. Dissertação de mestrado (Química) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

OH, M.; LEE, J.; KIM, Y. J.; RHEE, W. J.; PARK, J. H. Exosomes derived from human induced pluripotent stem cells ameliorate the aging of skin fibroblasts. *Journal International of molecular sciences*, v. 19, n. 6, p. 1715, 2018.

OLESZKIEWICZ, T.; KLIMEK-CHODACKA, M.; MILEWSKA-HENDEL, A.; ZUBKO, Z.; STROZ, D.; KURCZYNSKA, E.; BOBA, A.; SZODA, J.; BARANSKI, R. Unique chromoplast organization and carotenoid gene expression in carotenoid rich carrot callus. *Planta*, v. 248, n. 6, p. 1455-1471, 2018.

OLIVEIRA, A. I. T.; MAHMOUD, T. S.; NASCIMENTO, G. N.; SILVA, J. F. M.; PIMENTA, R. S.; MORAIS, P. B. Chemical composition and antimicrobial potential of palm leaf extracts from babaçu (*Attalea speciosa*), buriti (*Mauritia flexuosa*), and macaúba (*Acrocomia aculeata*). *The Scientific World Journal*, v. 2016, p. 1-5, 2016.

ORDÓÑEZ-SANTOS, L. E.; PINZÓN-ZARATE, L. X.; GONZÁLEZ-SALCEDO, L. O. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of total carotenoids from peach palm fruit (*Bactris gasipaes*) by-products with sunflower oil using response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 27, p. 560-566, 2015.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, v. 74, p. 10-36, 2015.

OUSSAID, S.; CHIBANE, M.; MADANI, K.; AMROUCHE, T.; ACHAT, S.; DAHMOUNE, S.; HOUALI, K.; RENDUELES, M.; DIAZ, M. Optimization of the extraction of phenolic compounds from *Scirpus holoschoenus* using a simplex centroid design for antioxidant and antibacterial applications. *Food science and technology*, v. 86, p. 635-642, 2017.

PADILHA, C. E. A.; AZEVEDO, J. C. S.; SOUSA JÚNIOR, F. C.; OLIVEIRA JÚNIOR, S. D.; SOUZA, D. F. S.; OLIVEIRA, J. A.; MACEDO, G. R.; SANTOS, E. S. Recovery of polyphenols from camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) depulping residue by cloud point extraction. *Chinese journal of chemical engineering*, v. 26, n. 12, p. 2471-2476. 2018a.

PADILHA, C. E. A.; DANTAS, P. V. F.; NOGUEIRA, C. D. C.; LEITÃO, A. L. D. S.; ALMEIDA, H. N.; SANTANA, S. D. F.; DOS SANTOS, E. S. Enhancing the recovery and concentration of polyphenols from camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) by aqueous two-phase flotation and scale-up process. *Separation Science and Technology*, v. 53, n. 13, p. 2126-2135. 2018b.

PAIM, R. S. P.; LORENZINI, E. strategies for prevention of bacterial resistance: contributions to patient safety. *Revista Cuidarte*, v. 5, n. 2, p. 757-764, 2014.

PAIVA, A.; CRAVEIRO, R.; AROSO, I.; MARTINS, M.; REIS, R. L.; DUARTE, A. R. C. Natural deep eutectic solvents—solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, v. 2, n. 5, p. 1063-1071, 2014.

PALOMBO, P.; FABRIZI, G.; RUOCCO, V.; RUOCCO, E.; FLUHR, J.; ROBERTS, R.; MORGANTI, P. Beneficial long-term effects of combined oral/topical antioxidant treatment with the carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: a double-blind, placebo-controlled study. *Skin pharmacology and physiology*, v. 20, n. 4, p. 199-210, 2007.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and unexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.46, p.2720-2722, 2002.

PANG, K.; HOU, Y.; WU, W.; GUO, W.; PENG, W.; MARSH, K. N. Efficient separation of phenols from oils via forming deep eutectic solvents. *Green Chemistry*, v. 14, n. 9, p. 2398-2401, 2012.

PANGESTUTI, R.; SIAHAAN, E.; KIM, S-K. Photoprotective Substances Derived from Marine Algae. *Marine drugs*, v. 16, n. 11, p. 1-16, 2018.

PANTOJA, S.S.; MESCOUTO, V. A.; COSTA, C. E. F.; ZAMIAN, J. R.; ROCHA FILHO, G. N.; NASCIMENTO, L. A. S. High-Quality Biodiesel Production from Buriti (*Mauritia flexuosa*) Oil Soapstock. *Molecules*, v. 24, n. 1, p. 94. 2019.

PASSOS, M. A. B.; MENDONÇA, M. S. Epiderme dos segmentos foliares da *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) em três fases de desenvolvimento. *Acta Amaz*, v. 36, p. 431-436. 2006.

PENA-PEREIRA, F.; NAMIEŚNIK, J. Ionic liquids and deep eutectic mixtures: sustainable solvents for extraction processes. *Chemistry & Sustainability*, v. 7, n. 7, p. 1784-1800, 2014.

PEREIRA, P. F.; TOBISZEWSKI, M. *Supramolecular solvents for green chemistry*. In: CABALLO, C.; SICILIA, M. D.; RUBIO, S. *The Application of Green Solventes in Separation Processes*. Córdoba: Elsevier, 2017.

PEREIRA, R. J.; DAS GRAÇAS C. M. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

PEREIRA, Y. F.; COSTA, M. S.; TINTINO, S. R.; ROCHA, J. E.; RODRIGUES, F. F. G.; FEITOSA, M. K. S. B.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.; DA COSTA, J. G. M.; DE SOUZA, E. O. Modulation of the Antibiotic Activity by the *Mauritia flexuosa* (Buriti) Fixed Oil against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) and Other Multidrug-Resistant (MDR) Bacterial Strains. *Pathogens*, v. 7, n. 4, p. 2-8. 2018.

PEREIRA-FREIRE, J. A.; OLIVEIRA, G. L. S.; LIMA, L. K. F.; RAMOS, C. L. S.; ARCANJO- MEDEIROS, S. R. A.; LIMA, A. C. S.; TEIXEIRA, S. A.; OLIVEIRA, G. A. L.; NUNES, N. M. F.; AMORIN, V. R.; LOPES, L. S.; ROLIN, L. A.; COSTA-JUNIOR,

J. S.; FERREIRA, P. M. P. In Vitro and Ex Vivo Chemopreventive Action of *Mauritia flexuosa* Products. *Complementary and Alternative Medicine*, v. 2018, ID 2051279, 2018.

PEZOTI, O. J. R.; CAZETTA, A. L.; SOUZA, I. P. A. F.; BEDIN, K. C.; ALESSANDRO, C. M.; SILVA, T. L.; ALMEIDA, V. C. Adsorption studies of methylene blue onto ZnCl₂-activated carbon produced from buriti shells (*Mauritia flexuosa* L.). *Journal of Industrial and Engineering chemistry*, v. 20, n. 6, p. 4401-4407. 2014.

PHONSATTA, N.; DEETAE, P.; LUANGPITUKSA, P.; GRAJEDA-IGLESIAS, C.; FIGUEROA-ESPINOZA, M. C.; LE COMTE, J.; PANYA, A. Comparison of antioxidant evaluation assays for investigating antioxidative activity of gallic acid and its alkyl esters in different food matrices. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 65, n. 34, p. 7509-7518. 2017.

POURREZA, N.; GOLMOHAMMADI, H.; NAGHDI, T.; YOUSEFI, H. Green in-situ synthesized silver nanoparticles embedded in bacterial cellulose nanopaper as a bionanocomposite plasmonic sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 74, p. 353-359. 2015.

PRADO, J. M.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Extraction methods for obtaining carotenoids from vegetables-review. *Current Analytical Chemistry*, v. 10, n. 1, p. 29. 2014.

PUNTEL, R. L.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T. N-methyl-D-aspartate receptors are involved in the quinolinic acid, but not in the malonate pro-oxidative activity in vitro. *Neurochemical research*, v. 30, n. 3, p. 417-424. 2005.

RAHIMI, S.; MIKANI, M. Lycopene green ultrasound-assisted extraction using edible oil accompany with response surface methodology (RSM) optimization performance: Application in tomato processing wastes. *Microchemical Journal*, v. 146, p. 1033-1042. 2019.

RAMALHO, I.M.M. Microemulsão contendo Crisina com potencial ação antinociceptiva. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

RAMEL, F.; BIRTIC, S.; CUINÉ, S.; TRIANTAPHYLIDÈS, C.; RAVANAT, J. L.; HAVAUX, M. Chemical quenching of singlet oxygen by carotenoids in plants. *Plant Physiology*, v. 158, n. 3, p. 1267-1278, 2012.

RAZA, W.; LEE, J.; RAZA, N.; LUO, Y.; KIM, K. H.; YANG, J. Removal of phenolic compounds from industrial waste water based on membrane-based technologies. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 71, p. 1-18. 2019.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SANGALETI-GERHARD, N.; BUENO-BORGES, L. B. *Bioethanol as the sole solvent for vegetable oil extracion and biodiesel prodution*. In: DABBETS, S.; LEWANDOVISKI, L.; WEISS, J.; PYKA, A. *Desenvolvimentos dirigidos ao conhecimento na bioeconomia*. Piracicaba: Springer, 2017.

RESENDE, L. M.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. *Food chemistry*, v. 270, p. 53-60, 2019.

REYES, F. M.; CARRASCO, P. C. The anti-cancer effect of quercetin: Molecular implications in cancer metabolism. *International journal of molecular sciences*, v. 20, n. 13, p. 3177. 2019.

REZAEI, F.; YAMINI, Y.; MORADI, M. A comparison between emulsification of reverse micelle-based supramolecular solvent and solidification of vesicle-based supramolecular solvent for the microextraction of triazines. *Journal of Chromatography A*, v. 1327, p. 155-159, 2014.

ROCHA, I. V.; FERRAZ, P. D. M.; FARIAS, T. G. S. D.; OLIVEIRA, S. R. D. Resistance of bacteria isolated from equipment in an intensive care unit. *Acta Paulista de Enfermagem*, v. 28, n. 5, p. 433-439, 2015.

RODRIGEZ-AMAYA, D. B. *A guide to carotenoid analysis in food*. ILSI Press, Washington, DC. 2001.

RODRIGUES, L. R. Microbial surfactants: fundamentals and applicability in the formulation of nano-sized drug delivery vectors. *Journal of colloid and interface science*, v. 449, p. 304-316. 2015.

RODRIGUES, M. L.; SOUZA, A. R. M.; LIMA, J. C. R.; MOURA, C. S.; GERALDINE, R. M. Cinética da degradação de carotenoides e da alteração de cor do azeite de pequi submetido ao aquecimento em temperatura de fritura. *Ciência Rural*, v. 43, n. 8, p. 1509-1515, 2013.

RODRIGUES, P. R.; ARAÚJO, M. F. L.; ROCHA, T. L.; VELOSO, R. V. S.; PANTOJA, L. A.; SANTOS, A. S. Evaluation of buriti endocarp as lignocellulosic substrate for second generation ethanol production). *PeerJ- Life & Environment*, v. 6, p. e5275, 2018.

RODRIGUEZ, E. B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Formation of apocarotenals and epoxycarotenoids from β -carotene by chemical reactions and by autoxidation in model systems and processed foods. *Food Chemistry*, v. 101, n. 2, p. 563-572, 2007.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; GODOY, H. T.; AMAYA-FARFAN, J. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 21, n. 6, p. 445-463. 2008.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, C.; QUIRANTES-PINÉ, R.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, v. 66, p. 246-254. 2015.

RONEN, G.; COHEN, M.; ZAMIR, D.; HIRSCHBERG, J. Regulação da biossíntese de carotenóides durante o desenvolvimento do fruto do tomate: a expressão do gene para o licopeno epsilon-ciclase é regulada negativamente durante o amadurecimento e elevada no delta mutante. *The Plant Journal*, v. 17, n. 4, p. 341-351, 1999.

ROSELLÓ-SOTO, E.; KOUBAA, M.; MOUBARIK, A.; LOPES, R. P.; SARAIVA, J. A.; BOUSSETTA, N.; BARBA, F. J. Emerging opportunities for the effective valorization of wastes and by-products generated during olive oil production process: Non-conventional methods for the recovery of high-added value compounds. *Trends in Food Science & Technology*, v. 45, n. 2, p. 296-310. 2015.

ROSS, S. M. The effects of an oral supplement (Viscoderm Pearls) on premature skin aging induced by excessive solar ultraviolet radiation. *Holistic nursing practice*. v. 30, n. 4, p. 236-240. 2016.

ROZZI, N. L. Supercritical fluid extraction of lycopene from tomato processing byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 50, n. 1, p. 2638-2643, 2002.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNES, J. P. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. *Embrapa Agroindústria Tropical- Comunicado Técnico*, 2007.

RUIZ, F. J.; RUBIO, S.; PÉREZ-BENDITO, D. Water-induced coacervation of alkyl carboxylic acid reverse micelles: phenomenon description and potential for the extraction of organic compounds. *Analytical chemistry*, v. 79, n. 19, p. 7473-7484. 2007.

RUIZ-OLLES, J.; SLAVIK, P.; WHITELAW, N. K.; SMITH, D. K. Self-Assembled Gels formed in Deep Eutectic Solvents–Supramolecular Eutectogels with High Ionic Conductivities. *Angewandte Chemie*, v. 131, p. 1–7. 2019.

RUIZ-SOLA, M. Á.; RODRÍGUEZ-CONCEPCIÓN, M. Carotenoid biosynthesis in Arabidopsis: a colorful pathway. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists*, v. 10, 2012.

SABIR, S. M.; ATHAYDE, M. L.; BOLIGON, A. A.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant activities and phenolic profile of Baccharis trimera, a commonly used medicinal plant from Brazil. *South African Journal of Botany*, v. 113, p. 318-323, 2017.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*. v. 240, n. 1, p. 90-103, 2018.

SALATTI-DORADO, J. A.; GÓMEZ-GARCÍA, D.; RUIZ-RODRIGUEZ, V.; GUEGUEN, V.; DJAVID-PAVON, G.; RUBIO. Multifunctional green supramolecular solvents for cost-effective production of highly stable astaxanthin-rich formulations from *Haematococcus pluvialis*. *Food chemistry*, v. 279, p. 294-302, 2019.

SAMPAIO, M. B.; CARRAZZA, L. R. Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Buriti (*Mauritia flexuosa*) (pp. 76). Brasília – DF. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN). Brasil: Almeida, F. V. R. Araújo, R. (in portuguese). 2012.

SANDER, N. L.; PÉREZ, Z. F.; DA SILVA, C. J.; ARRUDA, J. C.; PULIDO, M. T.; BARELLI, M. A.; CIBRIÁN, J. A. Rivers shape population genetic structure in *Mauritia flexuosa* (Arecaceae). *Ecology and evolution*, v. 8, n. 13, p. 6589-6598, 2018.

SANTOS, Aline Elias. *Extração de compostos bioativos do jambolão (Syzygium Cumini (L.) Skeels) a baixas pressões e livre de solvente orgânico*. 2017. 108 f., il. Dissertação (engenharia de alimentos) – Universidade Federal de santa Catarina, Florianópolis, 2017.

SANTOS, Fernanda Elis. *Extração de óleo de soja utilizando etanol hidratado como solvente: equilíbrio do sistema e cinética do processo em coluna*. 2018. 112 f., il. Dissertação (ambiente e tecnologia sustentável) - Universidade da fronteira sul, Cerro largo, 2018.

SARAIVA, R. A.; MATIAS, E. F.; COUTINHO, H. D.; COSTA, J. G.; SOUZA, H. H. F.; FERNANDES, C. N.; MENEZES, I. R. Synergistic action between Caryocar coriaceum Wittm. fixed oil with aminoglycosides in vitro. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 113, n. 8, p. 967-972. 2011.

SAYYAR, S.; ABIDIN, Z. Z.; YUNUS, R.; MUHAMMAD, A. Solid liquid extraction of Jatropha seeds by microwave pretreatment and ultrasound assisted methods. *Journal of Applied Sciences*, v. 11, n. 13, p. 2444-2447, 2011.

SCHALKA, S.; MAGALHÃE, W. V.; CAZERTA, C.; SHITARA, D.; DA SILVA SUFI, B.; QUADROS, A. Composto nutracêutico aumenta a síntese de colágeno, elastina e ácido hialurônico. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, v. 9, n. 1, p. 46-50, 2017.

SCHWARTZ, S.; FRANK, E.; GIERHART, D.; SIMPSON, P.; FRUMENTO, R. Zeaxanthin-based dietary supplement and topical serum improve hydration and

reduce wrinkle count in female subjects. *Journal of cosmetic dermatology*. v. 15, n. 4, p. 13-20. 2016.

SHAH, M. R.; IMRAN, M.; ULLAH, S. *Nanoemulsions*. In: SHAH, M. *Lipid-based nanocarriers for drug delivery and diagnosis*. Pakistan: Elsevier, 2017.

SHAHBAZ, K.; MJALLI, F. S.; HASHIM, M. A.; ALNASHEF, I. M. Using deep eutectic solvents for the removal of glycerol from palm oil-based biodiesel. *Journal of Applied Sciences*, v. 10, n. 24, p. 3349-3354, 2010.

SHEN, J.; JIANG, C.; YAN, Y.; LIU, B.; ZU, C. Effect of increased UV-B radiation on carotenoid accumulation and total antioxidant capacity in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaves. *Genetics and molecular Research*, v. 16, n. 1, 2017.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, v. 53, p. 10-23, 2012.

SILVA, A. C. O.; SILVA, R. C. G.; OLIVEIRA, S. R. Clindamycin microbial resistance in clinical isolates of *Staphylococcus* sp. derived from blood cultures of hospitalized patients. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 52, n. 3, p. 165-170, 2016.

SILVA, A.; SILVA, A.; MASSON, R.; COSTA, N.; RIBEIRO, E. Avaliação da atividade antimicrobiana da planta *Tradescantia pallida* Munt (*Taboquinha Roxa*). *Rev. bras. plantas med*, v. 17, n. 3, p. 374-378, 2015.

SILVA, André Felipe. *Revestimentos comestíveis na aplicação em melancia e melão: adição do adjunto óleo de buriti e vida de prateleira*. 2017.98f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Gurupi. 2017.

SIMONETTI, E. *Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes**. 2015. *Dissertação Mestrado (Curso de Biotecnologia)* - Universidade do Vale do Taquari, Lajeado, 2015.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, v. 28, n. 4, p. 1057-1060, 1989.

SMITH, E. L.; ABBOTT, A. P.; RYDER, K. S. Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical reviews*, v. 114, n. 21, p. 11060-11082, 2014.

SOARES, K. P.; LONGHI, S. J.; WITECK N. L.; ASSIS, L. C. D. Palms (Arecaceae) from Rio Grande do Sul, Brazil. *Rodriguésia*, v. 65, n. 1, p. 113-139, 2014.

SOQUETTA, M. B.; TERRA, L. D. M.; BASTOS, C. P. Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA-Journal of Food*, v. 16, n. 1, p. 400-412, 2018.

SOUSA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G.; CAMPOS, A. R.; DA COSTA, J. G. M. Phytochemical analysis and modulation in aminoglycosides antibiotics activity by *Lantana camara* L. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 37, n. 2, p. 213-218. 2015.

SPERANZA, P.; RIBEIRO, A. P. B.; MACEDO, G. A. Application of lipases to regiospecific interesterification of exotic oils from an Amazonian area. *Journal of biotechnology*, v. 218, p. 13-20, 2016.

SRIVASTAVA, N.; TIWARI, S.; BHANDARI, K.; BISWAL, A. K.; RAWAT, A. K. S. Novel derivatives of plant monomeric phenolics: act as inhibitors of bacterial cell-to-cell communication. *Microbial Pathogenesis*, v. 141, p. 103856. 2020.

STAHL, W.; HEINRICH, U.; JUNGSMANN, H.; SIES, H.; TRONNIER, H. Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans. *The American journal of clinical nutrition*, v. 71, n. 3, p. 795-798, 2000.

STAHL, W.; SIES, H. β -Carotene and other carotenoids in protection from sunlight. *The American journal of clinical nutrition*, v. 96, n. 5, p. 1179-1184, 2012.

STANLEY, L.; YUAN, Y. W. Transcriptional regulation of carotenoid biosynthesis in plants: So many regulators, so little consensus. *Frontiers in plant science*, v. 10, p. 1017, 2019.

STEFOU, I.; GRIGORAKIS, S.; LOUPASSAKI, S.; MAKRIS, D. P. Development of sodium propionate-based deep eutectic solvents for polyphenol extraction from onion solid wastes. *Clean Technologies and Environmental Policy*, v. 21, n. 8, p. 1563-1574, 2019.

SUN, H.; MU, T.; XI, L.; SONG, Z. Effects of domestic cooking methods on polyphenols and antioxidant activity of sweet potato leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 62, n. 36, p. 8982-8989. 2014.

SUN, T.; YUAN, H.; CAO, H.; YAZDANI, M.; TADMOR, Y.; LI, L. Carotenoid metabolism in plants: the role of plastids. *Molecular plant*, v. 11, n. 1, p. 58-74, 2018.

TAKAHASHI, M.; WATANABE, H.; KIKKAWA, J.; OTA, M.; WATANABE, M.; SATO, Y.; SATO, N. Carotenoids extraction from Japanese persimmon (Hachiya-kaki) peels by supercritical CO₂ with ethanol. *Analytical Sciences*, v. 22, n. 11, p. 1441-1447, 2006.

TANG, B.; CHENG, G.; GU, J. C.; XU, C. H. Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms. *Drug discovery today*, v. 13, n. 13-14, p. 606-612. 2008.

TANG, B.; ROW, K. H. Recent developments in deep eutectic solvents in chemical sciences. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, v. 144, n. 10, p. 1427-1454, 2013.

TANG, S. S.; APISARNTHANARAK, A.; HSU, L. Y. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Advanced drug delivery reviews*, v. 78, p. 3-13, 2014.

TENÓRIO, R. F. L.; NASCIMENTO, M. S.; LIMA, F. J. V. M.; SOUSA, M. M. B.; COELHO, M. C. D. O. C. Atividade antibacteriana in vitro do extrato de abarema cochliacarpos (gomes) barneby & jw grimes contra bactérias isoladas de feridas cutâneas de cães. *Ciência Animal Brasileira*, v. 17, n. 2, p. 252-259, 2016.

TESTON, A. P.; NARDINO, D.; PIVATO, L. Envelhecimento cutâneo: teoria dos radicais livres e tratamentos visando a prevenção e o rejuvenescimento. *Revista uningá review*, v. 1, n. 1. 2017.

THONGSAW, A.; UDNAN, Y.; ROSS, G. M.; CHAIYASITH, W. C. Speciation of mercury in water and biological samples by eco-friendly ultrasound-assisted deep eutectic solvent based on liquid phase microextraction with electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, v. 197, p. 310-318. 2019.

TIAN, F.; LI, B.; JI, B.; YANG, J.; ZHANG, G.; CHEN, Y.; LUO, Y. C. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry*, v. 113, n. 1, p. 173-179, 2009.

TORRES-VALENZUELA, L. S.; BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; RUBIO, S. Supramolecular solvent extraction of bioactives from coffee cherry pulp. *Journal of Food Engineering*, v. 278, p. 109933. 2020.

TRÊS, M. V.; FRANCHESCHI, E.; BORGES, G. R.; DARIVA, C.; CORAZZA, F. D. C.; OLIVEIRA, J. V.; CORAZZA, M. L. Influência da temperatura na solubilidade de beta-caroteno em solventes orgânicos à pressão ambiente. *Food Science and Technology*, v. 27, n. 4, p. 737-743, 2007.

TUZEN, M.; NAEEMULLAH. A new robust, deep eutectic-based floating organic droplets microextraction method for determination of lead in a portable syringe system directly couple with FAAS. *Talanta*, v. 196, p. 71-77. 2019.

URIKURA, I.; SUGAWARA, T.; HIRATA, T. Protective effect of fucoxanthin against UVB-induced skin photoaging in hairless mice. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, v. 75, n. 4, p. 757-760, 2011.

VAYA, J. Exogenous markers for the characterization of human diseases associated with oxidative stress. *Biochimie*, v. 95, n. 3, p. 578-584, 2013.

VERGARA, A. S.; CÓRDOVA, M. F.; CASTILLO, M. L. S.; HARO, I. M. R.; RODRÍGUEZ, A. P. V. Antibacterial effect of the hydroalcoholic extract of *Mauritia flexuosa* leaves on gram-negative and gram-positive bacteria. *F1000 Research*, v. 8, n. 1487, p. 1487, 2019.

VIEGAS, V.; AMARAL, L.; MATOS, C.; NASCIMENTO, O. Infecção por *Staphylococcus aureus*. *Acta Ped. Port. Soc. Port. Ped*, v. 41, p. 79-81, 2010.

VIEIRA, F. A.; GUILHERME, R. J.; NEVES, M. C.; REGO, A.; ABREU, M. H.; COUTINHO, J. A.; VENTURA, S. P. Recovery of carotenoids from brown seaweeds using aqueous solutions of surface-active ionic liquids and anionic surfactants. *Separation and Purification Technology*, v. 196, p. 300-308. 2018.

VIEIRA, F. A.; VENTURA, S. P. Efficient extraction of carotenoids from *Sargassum muticum* using aqueous solutions of Tween 20. *Marine drugs*, v. 17, n. 5, p. 310. 2019.

VILA, E.; HORNERO-MÉNDEZ, D.; AZZIZ, G.; LAREO, C.; SARAVIA, V. Carotenoids from heterotrophic bacteria isolated from Fildes Peninsula, King George Island, Antarctica. *Biotechnology Reports*, v. 21, p. 306, 2019.

VILKHU, K.; MANASSEH, R.; MAWSON, R.; ASHOKKUMAR, M. Ultrasonic recovery and modification of food ingredients. *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*, p. 345-368, 2011.

WANG, J. J.; SUNG, K. C.; YEH, C. H.; FANG, J. Y. The delivery and antinociceptive effects of morphine and its ester prodrugs from lipid emulsions. *International journal of pharmaceutics*, v. 353, n. 2, p. 95-104, 2008.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, v. 17, n. 6, p. 300-312, 2006.

WEN, C.; ZHANG, J.; ZHANG, H.; DZAH, S. C.; ZANDILE, M.; DUAN, Y.; MA, H.; LUO, X. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops—A review. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 48, p. 538-549, 2018.

WEN, L.; QU, B. T.; ZHAI, K.; DING, J.; HAI, Y.; ZHOU, L. J. Gallic acid can play a chondroprotective role against AGE-induced osteoarthritis progression. *Journal of Orthopaedic Science*, v. 20, n. 4, p. 734-741, 2015.

XU, Y.; PAN, S. Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise Macf.*). *Ultrasonics sonochemistry*, v. 20, n. 4, p. 1026-1032, 2013.

YADOLLAHI, R.; VASILEV, K.; SIMOVIC, S. Nanosuspension technologies for delivery of poorly soluble drugs. *Journal of Nanomaterials*, v. 2015, p. 1, 2015.

YUAN, H.; ZHANG, J.; NAGESWARAM Carotenoid metabolism and regulation in horticultural crops. *Horticulture Research*, v. 2, p. 15036, 2015.

ZANATTA, F. C.; MITJANS, M.; UGARTONDO, V.; FILHO, R. A. P.; VINARDELL, P. Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines. *Food and chemical Toxicology*, v. 48, n. 1, p. 70-75, 2010.

ZANATTA, F. C.; UGARTONDO, V.; MITJANS, M.; FILHO, R. A. P.; VINARDELL, P. Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. *Food and chemical toxicology*, v. 46, n. 8, p. 2776-2781, 2008.

ZHANG, L.; SHI, D.; SHI, C.; KANEKO, T.; CHEN, M. Supramolecular micellar drug delivery system based on multi-arm block copolymer for highly effective encapsulation and sustained-release chemotherapy. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 7, n. 37, p. 5677-5687, 2019.

ZUPANC, M.; PANDUR, Z.; PERDIH, S. T.; STOPAR, D.; PETKOVSEK, M.; DULAR, M. Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrasonics sonochemistry*, v. 57, p. 147-165, 2019.