

Adenilson Renato Rudke

**OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE BURITI
(*Mauritia Flexuosa* L.) POR DIFERENTES TÉCNICAS DE
EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL
ANTIOXIDANTE**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Área de concentração:
Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr^a. Sandra R.S. Ferreira

Florianópolis
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rudke, Adenilson Renato
OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE BURITI
(Mauritia Flexuosa L.) POR DIFERENTES TÉCNICAS DE
EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE
/ Adenilson Renato Rudke ; orientador, Sandra
Regina Salvador Ferreira, 2019.
131 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, , Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

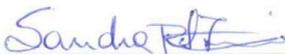
1. Engenharia de Alimentos. 2. Mauritia
flexuosa. 3. antioxidantes. 4. técnicas de extração.
5. extratos. I. Ferreira, Sandra Regina Salvador.
II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.
III. Título.

**“OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE RESÍDUOS DE
BURITI (*Mauritia flexuosa*) POR DIFERENTES
TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DO SEU
POTENCIAL ANTIOXIDANTE”**

Por

Adenilson Renato Rudke

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.



Profª. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira
Orientadora

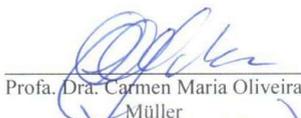


Profª. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira
Coordenadora

Banca Examinadora:



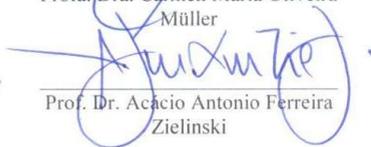
Profª. Dra. Sandra Regina
Salvador Ferreira



Profª. Dra. Carmen Maria Oliveira
Müller



Profª. Dra. Kátia Suzana Andrade



Prof. Dr. Acacio Antonio Ferreira
Zielinski

Florianópolis, 08 de março de 2019.

*Aos meus pais Divanir Rudke e Lauri
Rudke.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria em primeiro lugar de agradecer a Deus, por estar sempre comigo em todos os caminhos que percorri e que me trilharam até aqui.

À minha orientadora, professora Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira que me aceitou como seu orientado depositando sua confiança em mim, pela sua atenção, apoio, incentivo e paciência. Meu muito obrigado!

As professoras doutoras Kátia S. Andrade e Simone Mazzutti, que me auxiliaram muito nessa pesquisa, me incentivando, me cobrando, me dando dicas e compartilhando de idéias.

Ao professor Luciano Vitali pela realização das análises de HPLC.

À CAPES pelo aporte financeiro.

Aos membros da banca examinadora por todas as contribuições.

À toda equipe do LATESC pelas dicas compartilhadas, pelos momentos de descontração e pelo apoio. Nessa dissertação, tem um pouquinho de cada um de vocês, seja por um artigo compartilhado, seja nas dicas com utilização de programas ou mesmo no auxílio em algum equipamento.

À família Baratela, por gentilmente terem cedido e me auxiliado na coleta do buriti, meu muito obrigado a vocês.

À minha família por todo apoio, por todas as orações, e por todas as energias positivas enviadas.

À minha namorada Carla Monteiro por todo amor, carinho, incentivo, paciência e companheirismo.

Ao programa de pós-graduação em Engenharia de Alimentos e a UFSC por toda estrutura e condições necessárias para a execução deste trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma para que este trabalho fosse executado.

*“Não há nada que possa me impedir de ser capaz,
ou ser forte o bastante. Errante é o passo, que se
limita a ser raso”.*

(Guilherme de Sá)

RESUMO

O buriti é pertencente a família *Arecaceae*, sendo a palmeira mais abundante no Brasil. Vegeta áreas alagadas da Amazônia e do Cerrado brasileiro. A fruta possui alto teor de carotenoides e compostos antioxidantes, sendo sua polpa muito utilizada nas indústrias de cosmético e alimentícia. Sua casca e semente, por sua vez, são em geral, considerados “resíduos”. Com o objetivo de encontrar uma finalidade para estes “resíduos”, este trabalho testou diferentes técnicas de extração com diferentes solventes para obter extratos com atividade antioxidante, para uma possível aplicação. As técnicas utilizadas para extração foram Soxhlet, Extração com líquido pressurizado, Extração assistida por micro-ondas e por ultrassom. Os solventes testados foram o hexano, água, etanol e misturas de etanol e água em diferentes proporções. As repostas analisadas foram rendimento, teor de fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS, além da verificação do perfil de compostos fenólicos por HPLC. No PLE também foi verificado o conteúdo de carotenoides totais. O estudo de otimização no PLE revelou que para maximizar rendimento, fenólicos totais, carotenoides totais e atividade antioxidante uma temperatura de 71,21 °C deve ser utilizada assim como um teor de etanol na mistura etanol-água de 91,58%. Dentre as técnicas utilizadas foi no Soxhlet que os maiores valores de rendimento foram obtidos. A casca de buriti demonstrou ser um resíduo que apresenta maiores qualidades que a semente, no que diz respeito as respostas testadas, pois maiores valores de rendimento, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante foram obtidos. Os menores valores referentes a estas análises foram utilizando hexano como solvente. A técnica de micro-ondas demonstrou ser uma técnica eficiente para a obtenção de extratos com alto teor de fenólicos e alta atividade antioxidante. Vinte e sete compostos fenólicos foram identificados sendo que 7 foram identificadas pela primeira vez no buriti. Os resultados deste estudo demonstraram um potencial nos resíduos de buriti, principalmente no que diz respeito a sua casca, apresentando altos valores de atividade antioxidante, confirmando dessa maneira, a importância da sua valorização.

Palavras-chave: *Mauritia flexuosa*; antioxidantes; otimização; extratos; técnicas de extração.

ABSTRACT

The buriti belongs to the family *Arecaceae*, being the most abundant palm tree in Brazil. It vegetates flooded areas of the Amazon and the Brazilian Cerrado. The fruit has high content of carotenoids and antioxidant compounds, being its pulp much used in the cosmetic and food industries. Their shell and seed, in turn, are generally considered "residues". With the objective of finding a purpose for these "residues", this work tested different extraction techniques with different solvents to obtain extracts with antioxidant activity, for a possible application. The techniques used for extraction were Soxhlet, Pressurized Liquid Extraction, Microwave Assisted Extraction and Ultrasound Assisted Extraction. The solvents tested were hexane, water, ethanol and mixtures of ethanol and water in different proportions. The responses analyzed were yield, total phenolic content, antioxidant activity by the DPPH and ABTS methods, as well as the profile verification of phenolic compounds by HPLC. In PLE also the total carotenoids content was verified. The optimization study in PLE showed that to maximize yield, total phenolics, total carotenoids and antioxidant activity a temperature of 71.21 ° C should be used as well as an ethanol content in the ethanol-water mixture of 91.58%. Regarding the techniques used, the Soxhlet technique was the highest values of yield were obtained. The buriti shell showed to be a residue that presents higher qualities than the seed, with respect to the tested responses, since higher values of yield, total phenolic content and antioxidant activity were obtained. The lowest values for these analyzes were using hexane as the solvent. The microwave technique proved to be an efficient technique to obtain extracts with high phenolic content and high antioxidant activity. Twenty-seven phenolic compounds were identified, and 7 appeared for the first time in buriti. The results of this study demonstrated a potential in buriti residues, mainly in relation to its shell, presenting high values of antioxidant activity, confirming in this way, the importance of its valorization.

Keywords: *Mauritia flexuosa*; antioxidants; optimization; extracts; extraction techniques.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – a) Mapa demonstrando a distribuição da <i>Mauritia flexuosa</i> na América do Sul. b) Foto da <i>Mauritia flexuosa</i>	34
Figura 2 – Frutos de buriti.....	35
Figura 3 - Fluxograma resumindo o que foi realizado neste trabalho... 51	51
Figura 4 – a) Mapa do Estado de Rondônia com a cidade onde foi realizada a coleta em destaque; b) Imagem aérea do Google Earth do local da coleta dos frutos.....	52
Figura 5 - Diferentes partes do buriti. A) Fruto do buriti; B) casca; C) endocarpo; D) polpa; E) semente.....	52
Figura 6 - Imagens correspondentes as medições do comprimento longitudinal e transversal do fruto e da semente do buriti.....	53
Figura 7 -A) Cinética de extração da casca de buriti utilizando o PLE*. B) Decaimento da coloração do extrato com o tempo.....	71
Figura 8 – Superfícies de Resposta (PARTE 1) e Diagramas de Pareto (PARTE 2) para as respostas analisadas. a) Rendimento; b) Carotenóides Totais; c) Teor de Fenólicos Totais; d) DPPH expresso em EC ₅₀ ;e) ABTS.....	77
Figura 9 – Rendimentos médios obtidos com a técnica de micro-ondas para a casca e semente do buriti em diferentes temperaturas.....	90
Figura 10 – Rendimentos médios obtidos com a técnica de ultrassom para a casca e a semente do buriti em diferentes teores de etanol.....	90
Figura 11 – Teor de Fenólicos Totais dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com micro-ondas em diferentes temperaturas.....	93
Figura 12 - Teor de Fenólicos Totais dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com ultrassom em diferentes teores de etanol.....	94
Figura 13 – Capacidade antioxidante pelo método de DPPH dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com micro-ondas em diferentes temperaturas.....	97
Figura 14 – Capacidade antioxidante pelo método de DPPH dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com ultrassom em diferentes teores de etanol.....	98
Figura 15 - Capacidade antioxidante pelo método de ABTS dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com micro-ondas em diferentes temperaturas.....	100
Figura 16 - Capacidade antioxidante pelo método de ABTS dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com ultrassom em diferentes teores de etanol.....	101
Figura 17 – Curva analítica dos padrões. a) Curva padrão do ácido gálico; b) Curva padrão do beta-caroteno; c) Curva padrão do Trolox.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento experimental utilizado para a obtenção de extratos de casca de buriti no PLE.	60
Tabela 2 - Características físicas do fruto e da semente do buriti.	67
Tabela 3 - Médias dos percentuais de casca, polpa, endocarpo e semente presentes no buriti.	68
Tabela 4 - Características das partículas utilizadas para a obtenção dos extratos de semente e casca de buriti.....	69
Tabela 5 – Delineamento do composto central com as variáveis reais T e E e sua influência nos extratos de casca de buriti obtidos no PLE quanto a seu rendimento (X_0), teor de carotenoides totais (TCT), teor de fenólicos totais (TFT) e na atividade antioxidante pelo método DPPH e ABTS..	74
Tabela 6 – Coeficientes de Regressão, coeficientes de determinação e os valores de p para o teste da falta de ajuste dos modelos de primeira e segunda ordem.	75
Tabela 7 - Perfil fenólico do extrato de casca de buriti extraídos por PLE ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de extrato).....	84
Tabela 8 – Respostas ótimas individuais e global para os extratos de casca de buriti obtidos por PLE.	86
Tabela 9 – Rendimento médio das extrações realizadas para a semente e casca de buriti.....	88
Tabela 10 – Índice de polaridade dos solventes utilizados para a extração de casca e semente de buriti.	91
Tabela 11 – Teor de Fenólicos totais (TFT) dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com as diferentes técnicas e diferentes solventes.....	92
Tabela 12 – Capacidade antioxidante pelo método de DPPH dos extratos de semente e casca de buriti obtidos com diferentes solventes e técnicas de extração.	95
Tabela 13 – Capacidade antioxidante pelo método de ABTS dos extratos de semente e casca de buriti obtidos com diferentes solventes e técnicas de extração.	99
Tabela 14 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) para o Teor de Fenólicos totais e as atividades antioxidantes pelo método de DPPH e ABTS.	102
Tabela 15 - Perfil fenólico do extrato de casca de buriti utilizando a técnica de ultrassom e etanol 50% ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de extrato).....	104
Tabela 16 - Dados da cinética de extração de casca de buriti utilizando o PLE.....	128

Tabela 17 – Parâmetros para identificação e quantificação dos compostos fenólicos no LC-ESI-MS/MS.....	129
Tabela 18 - Condições climáticas do mês referente a coleta de amostras*.	131

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Siglas	
Abs	Absorbância.
ABTS	2 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid).
ANOVA	<i>Analysis of Variance.</i>
ASE	<i>Acelerated Solvent Extraction.</i>
BHA	<i>Butil-hidroxi-anisol.</i>
BHT	<i>Butylated hydroxytoluene.</i>
CER	<i>Constant Extraction rate.</i>
DCC	Delineamento do Composto Central.
DIF	Etapa da extração difusional.
DPPH	2 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.
E	Etanol.
EAM	Extração assistida por micro-ondas.
EAU	Extração assistida por ultrassom.
EC ₅₀	<i>Effective concentration.</i>
FER	<i>Falling Extraction Rate.</i>
FRAP	<i>Ferric reducing antioxidant power.</i>
HPLC	<i>High pressurized Liquid Chromatography.</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
LATESC	Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica.
LC-ESI-MS/MS	<i>Liquid Chromatography-Electrospray Ionization- Mass spectrometry.</i>
LOD	<i>Limit of Detection.</i>
LOQ	<i>Limit of Quantification.</i>
MAE	<i>Microwave Assisted Extraction.</i>
nd	Não detectado.
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity.</i>
PFE	<i>Pressurized Fluid Extraction.</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico.
PHSE	<i>Pressurized Hot-Solvent extraction.</i>
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction.</i>
PG	<i>Propil galato.</i>
r	Coefficiente de correlação de Pearson.
RO	Rondônia.
R ²	Coefficiente de determinação.
R ² _{ajus}	Coefficiente de determinação ajustado.
S	<i>South.</i>
SFME	<i>Solvent free microwave extraction.</i>
SOX	Soxhlet.
T	Temperatura.
TBHQ	<i>tert-Butylhydroquinone.</i>
TCT	Teor de Carotenoides Totais.
TEAC	<i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity.</i>
TFT	Teor de fenólicos totais.
W	<i>West.</i>
Unidades	
KHz	QuiloHertz.
MHz	MegaHertz.
GHz	GigaHertz.
nm	Nanômetro.

µm	Micrômetro.
mm	Milímetro.
cm	Centímetro.
m	Metro.
min	Minuto.
h	Hora.
mg	Miligramma.
g	Gramma.
µL	Microlitro.
mL	Mililitro.
L	Litro.
v/v	Relação volume/volume.
v/v/v	Relação volume/volume/volume.
m/v	Relação massa/volume.
W	Watt.
rpm	Rotações por minuto.
MPa	Megapascal.
EAG	Equivalente em ácido gálico.
mM	miliMolar.
ET	Equivalente em Trolox.
%	Porcentagem.
EβC	Equivalente em beta caroteno.
°C	Gráus Celsius.
ppm	Partes por milhão.

Equações

A	Massa de amostra.
CA	Concentração da amostra.
Cp	Número de réplicas do ponto central.
D _i	Diâmetro da peneira <i>i</i> .
D _S	Diâmetro Superficial médio.
IA	Índice de polaridade do solvente A.
IB	Índice de polaridade do solvente B.
K	Número de fatores.
M	Massa total de Amostra.
m _a	Massa de amostra utilizada para compor o leite.
m _e	Massa de esfera utilizada para compor o leite.
M ₁	Massa inicial da amostra.
M ₂	Massa final da amostra.
ME	Massa de extrato.
mf	Massa total da fruta.
m _i	Massa retida na peneira <i>i</i> .
mpf	Massa da parte da fruta.
N	Número de experimentos.
PA	Percentual do solvente A na mistura.
PB	Percentual do solvente B na mistura.
PF	Parte do Fruto.
U	Umidade.
V	Volume do leite.
X ₀	Rendimento.
X ₁	Variável independente 1 (Temperatura).
X ₂	Variável independente 2 (Etanol).
Y ₁	Variável dependente 1 (Rendimento).
Y ₂	Variável dependente 2 (Teor de carotenoides Totais).

Y_3	Variável dependente 3 (Teor de Fenólicos Totais).
Y_4	Variável dependente 4 (DPPH).
Y_5	Variável dependente 5 (ABTS).
α	Ponto axial do desenho experimental.
β_0	Coefficiente de intercepto.
β_1	Coefficiente linear da variável 1.
β_2	Coefficiente linear da variável 2.
β_{11}	Coefficiente quadrático da variável 1.
β_{22}	Coefficiente quadrático da variável 2.
ϵ	Porosidade do leito.
ρ_{ra}	Massa específica real da amostra.
ρ_{re}	Massa específica real da esfera de vidro.
B_{12}	Coefficiente de interação entre a variável 1 e a variável 2.
$\Delta\varphi_i$	Fração retida em cada peneira i .

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	OBJETIVOS	29
2.1	OBJETIVO GERAL	29
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
2.3	DIAGRAMA CONCEITUAL	31
3	REVISÃO DE LITERATURA	33
3.1	BURITI (<i>MAURITIA FLEXUSOSA</i> L.)	33
3.1.1	A fruta.....	34
3.1.2	A casca.....	36
3.1.3	A semente	36
3.2	ANTIOXIDANTES	37
3.2.1	Definição e sua importância	37
3.2.2	Obtenção de antioxidantes naturais	38
3.2.3	Técnicas de determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i> 39	
3.3	CAROTENOIDES	40
3.4	TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO	41
3.4.1	Extração por Soxhlet.....	41
3.4.2	Extração assistida por ultrassom	42
3.4.3	Extração com líquido Pressurizado	44
3.4.4	Extração assistida por micro-ondas.....	45
3.5	METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA	47
3.6	ESTADO DA ARTE.....	49
4	MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1	AQUISIÇÃO E PREPARO DA MATÉRIA PRIMA.....	51
4.1.1	Coleta das amostras	51
4.1.2	Separação das partes do buriti.....	52
4.1.3	Características Físicas do fruto e da Semente de Buriti ..	53

4.1.4	Determinação do percentual das partes do Buriti	54
4.1.5	Preparação das amostras	54
4.1.6	Determinação do teor de umidade e substâncias voláteis	54
4.1.7	Determinação do Diâmetro médio superficial.....	55
4.1.8	Determinação da massa específica real de partículas.....	55
4.1.9	Porosidade do leito de partículas.....	56
4.2	EXTRAÇÕES.....	56
4.2.1	Extração com Soxhlet	56
4.2.2	Extração assistida por ultrassom.....	57
4.2.3	Extração assistida por micro-ondas	57
4.2.4	Extração com líquido pressurizado.....	58
4.2.4.1	Cinética de Extração	58
4.2.4.2	Rendimento	59
4.3	ANÁLISE DOS EXTRATOS OBTIDOS	60
4.3.1	Rendimento de extração.....	60
4.3.2	Teor de Fenólicos Totais.....	61
4.3.3	Teor de Carotenoides Totais	62
4.3.4	Atividade antioxidante	62
4.3.4.1	DPPH.....	62
4.3.4.2	ABTS	63
4.3.5	Identificação e quantificação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS.....	64
4.3.5.1	Preparação da amostra	64
4.3.5.2	Análise no LC-ESI-MS/MS.....	64
4.4	ANÁLISE DE DADOS	65
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	67
5.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO FRUTO E DA SEMENTE DE BURITI	67
5.2	PERCENTUAIS ENCONTRADOS PARA CADA UMA DAS PARTES DO BURITI.....	68

5.3	CARACTERÍSTICAS DAS PARTÍCULAS.....	69
5.4	EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO.....	70
5.4.1	Cinética de Extração obtido para a casca de buriti	70
5.4.2	Influência da temperatura e do conteúdo de etanol nos extratos de casca de buriti	72
5.4.2.1	Influência no rendimento de extração por PLE da casca de buriti	72
5.4.2.2	Influência no teor de carotenoides totais dos extratos de casca de buriti	78
5.4.2.3	Influência no Teor de Fenólicos Totais.....	80
5.4.2.4	Influência na atividade antioxidante	81
5.4.3	Perfil de fenólicos dos extratos de casca de buriti obtidos no PLE	82
5.4.4	Condições ótimas obtidas para o PLE.....	85
5.4.5	Comparação entre PLE e Soxhlet.....	87
5.5	RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES OBTIDAS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO	87
5.6	TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO	91
5.7	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO	94
5.7.1	Atividade antioxidante pelo método de DPPH	94
5.7.2	Atividade antioxidante pelo método de ABTS.....	98
5.8	CORRELAÇÃO ENTRE OS FENÓLICOS TOTAIS E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	101
5.9	PERFIL DE FENÓLICO DO EXTRATO DE CASCA DE BURITI OBTIDO POR ULTRASSOM.....	103
6	CONCLUSÃO	105
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	107
	REFERÊNCIAS	109
	APÊNDICE.....	127

ANEXO A – Tabela de condições climáticas do local de coleta das amostras	131
---	------------

1 INTRODUÇÃO

O buriti (*Mauritia flexuosa*) é a palmeira mais abundante no Brasil vegetando áreas alagadas conhecidas como buritizais. Sua fruta é altamente consumida pela população de dois biomas brasileiros: a Amazônia e o Cerrado. Sua polpa tem sido usada atualmente para a produção de cosméticos e produtos alimentares como doces, sorvetes, geleias, compotas, vinhos e para extração de óleo. As outras partes deste fruto (casca, semente e endocarpo), por sua vez, são pouco aproveitadas ou são descartadas. Casca e semente, por exemplo, quando utilizadas, têm seu uso destinado a produção de ração animal. No entanto, devido aos efeitos benéficos comprovados que a polpa tem e, devido ao fato de estudos demonstrarem que compostos antioxidantes podem ser obtidos de casca e semente de diversas frutas, muitas vezes com altos valores de antioxidantes. Este estudo verificou a possibilidade da obtenção de compostos antioxidantes de casca e semente de buriti.

Diversos fatores interferem na extração de compostos bioativos de matrizes vegetais tais como temperatura, solvente, técnica utilizada, tamanho, forma e umidade da partícula, razão sólido-líquido, pressão, potência e frequência (em alguns equipamentos), dentre outros. Cada técnica atua de uma determinada maneira, e extrai diferentes tipos de compostos ou até os mesmos compostos, mas em menor tempo devido a uma transferência de massa melhorada. Desta maneira, faz-se necessário o estudo de diferentes técnicas de extração sobre determinada matéria-prima para verificar qual técnica que possibilita uma melhor eficiência de extração de compostos bioativos, tais como os antioxidantes.

Os antioxidantes são moléculas que previnem ou retardam a ação de radicais livres. Estes radicais causam danos as nossas células e estão associados a diversas doenças. Por outro lado, antioxidantes também são usados na indústria alimentícia como uma forma de evitar a oxidação de óleos e gorduras. No entanto, os compostos antioxidantes largamente utilizados nas indústrias alimentícias são sintéticos e estudos apontam a toxicidade destes compostos, o que por sua vez, trazem malefícios a nossa saúde.

A obtenção de antioxidantes de fontes naturais, por sua vez, traz maiores benefícios, pois irão ajudar a combater os radicais livres presentes no nosso organismo. A substituição dos antioxidantes sintéticos por naturais ainda não é tão efetiva, talvez pelo custo que se têm em obter estas moléculas a partir de fontes naturais. Desta maneira, a utilização de técnicas de extração que reduzem este custo, juntamente com a utilização de solventes verdes que são facilmente removidos após as extrações, e a

valorização de subprodutos que seriam destinados ao descarte são interessantes do ponto de vista industrial e acadêmico.

Até o presente momento não existem trabalhos que realizaram a extração de casca e semente de buriti por técnicas não convencionais como Extração com líquido pressurizado (do inglês *Pressurized Liquid Extraction* PLE), Extração assistida com micro-ondas (do inglês *Microwave Assisted Extraction* MAE) e extração assistida por ultrassom (do inglês *Ultrasound Assisted Extraction* UAE). Essas técnicas comparativamente as técnicas convencionais buscam o aumento da eficiência de extração concomitante com uma menor utilização de recursos, sendo um processo mais amigo do ambiente (“*green technology*”). Sendo assim, este trabalho tem como principal objetivo a obtenção de extratos de semente e de casca de buriti com potencial antioxidante através de diferentes técnicas de extração.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os extratos dos resíduos de buriti (casca e semente) obtidos por diferentes técnicas de extração.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Obter extratos por *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), Soxhlet, *Pressurized Liquid Extraction* (PLE) e *Microwave Assisted Extraction* (MAE) utilizando um ou mais tipos de solventes.
- b) Avaliar o rendimento de extração obtido pelas diferentes técnicas e solventes;
- c) Determinar o teor de fenólicos totais dos extratos pelo método de Folin-Ciocalteu.
- d) Determinar a capacidade antioxidante dos extratos pelos métodos de ABTS e DPPH.
- e) Determinar o teor de carotenoides totais por espectrofotometria para os extratos obtidos no PLE.
- f) No PLE estudar a temperatura e o solvente em que as respostas (rendimento, teor de fenólicos totais, teor de carotenoides totais e a atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS) sejam otimizadas;
- g) Avaliar a composição de compostos fenólicos por HPLC de extratos selecionados.
- h) Comparar as técnicas e definir qual apresenta maiores vantagens para a obtenção de extratos com atividade antioxidante da semente e da casca do buriti.

2.3 DIAGRAMA CONCEITUAL

POR QUÊ?

- A fruta do buriti é muito consumida pelas populações de dois grandes biomas brasileiros: a Amazônia e o Cerrado. O consumo ocorre na fruta *in natura* e também em produtos como polpas, sorvetes, geleias, entre outros.
- Existem muitos benefícios associados ao buriti descritos na literatura.
- A maioria dos processos industriais que envolvem a fruta, casca e semente são considerados resíduos e são descartados.
- Estudos com cascas e sementes, de diferentes matérias primas, provenientes de processo que seriam descartados já foram realizados e demonstraram potenciais benefícios.

QUEM JÁ FEZ?

- Na literatura existem trabalhos com extratos de casca e semente de buriti com técnicas convencionais de extração.
- Existe um trabalho de tecnologia supercrítica envolvendo a extração de compostos antioxidantes da casca do buriti juntamente com a polpa.

HIPÓTESES?

- É possível promover a valorização de resíduos provenientes do buriti?
- Extratos de casca e semente de buriti podem ser obtidas por diferentes técnicas de extração?
- Existe uma condição no PLE que maximize diferentes respostas?
- Os resíduos de semente e casca de buriti apresentam potencial biológico?

COMO FAZER?

- Calcular quanto de resíduo é gerado, causando impacto e instigando a valorização.
- Avaliar como parâmetros de extração afetam na obtenção dos extratos e nas suas atividades.
- Avaliar moléculas presentes nos extratos que podem promover uma maior ou menor atividade antioxidante.

O QUE TEM DE NOVO?

- Este trabalho traz como novidade a extração de casca e semente de buriti por técnicas não convencionais, que não haviam sido registradas na literatura, nomeadamente, extração com líquido pressurizado, extração com micro-ondas e com ultrassom.
- Estudo da influência do conteúdo de etanol e da temperatura nos diferentes extratos de casca e semente de buriti obtidos com estas técnicas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo irá abordar os temas referentes a essa pesquisa, sendo assim ele irá tratar da matéria-prima, ou seja, o buriti, cujos resíduos (casca e semente) foram utilizados neste trabalho para a extração. Também irá tratar sobre as substâncias que são capazes de inibir ou retardar a oxidação de determinado substrato. Sobre algumas das técnicas utilizadas para extração de compostos de matrizes vegetais (Extração com líquido pressurizado (PLE), Soxhlet, extração assistida por ultrassons e micro-ondas). Por fim, a última seção irá tratar sobre a Metodologia de Superfície de Resposta, uma das técnicas estatístico-matemática utilizadas para resolução de problemas em que deseja-se analisar a influência da variação de mais de uma variável em uma determinada resposta minimizando o número de experimentos, e que nesta pesquisa foi utilizada para verificar a influência da temperatura e do conteúdo de etanol (em misturas de etanol:água) no rendimento, teor de fenólicos totais, teor de carotenoides totais e atividades antioxidantes dos extratos obtidos por PLE.

3.1 BURITI (*MAURITIA FLEXUSOSA* L.)

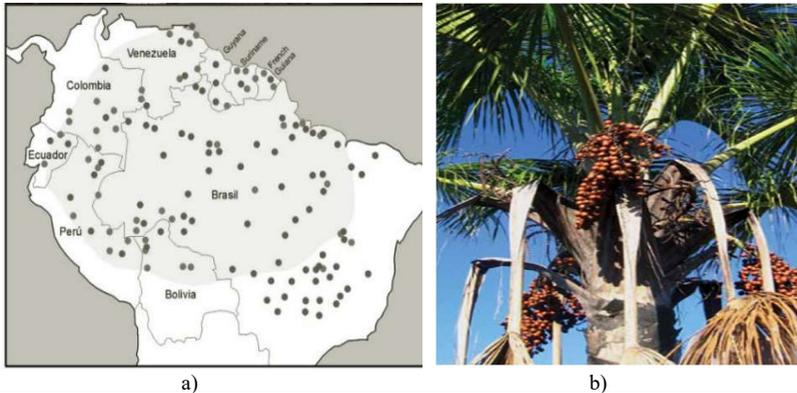
O Buriti (Figura 1b) (*Mauritia Flexuosa* L.) é considerado uma das palmeiras mais abundantes no Brasil (RFJ; PIGHINELLI, 2017; MILANEZ *et al.*, 2018), pertencente à família *Arecaceae*, esta palmeira é encontrada principalmente em dois biomas brasileiros: a Floresta Amazônica e o Cerrado (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015; NERI-NUMA *et al.*, 2018). Além de ser encontrada no Brasil, esta palmeira também está presente em outros países da América do Sul, tais como, as Guianas, Bolívia, Colômbia, Venezuela, Suriname, Peru e Equador (Figura 1a) (JUNIOR *et al.*, 2014).

Esta árvore, foi a primeira palmeira amazônica a ser descrita cientificamente em 1781 (KOOLEN *et al.*, 2018), cresce em pântanos que apresentam terrenos orgânicos ácidos com inundações permanentes ou sazonais e que, quando dominados pela *M. flexuosa*, são chamados de “buritizais” ou “veredas” (BATAGLION *et al.*, 2014; GALEANO *et al.*, 2015; CARVALHO; ORLANDA, 2017; NERI-NUMA *et al.*, 2018). Quando adulta a palmeira do buriti pode chegar aos 40 m, e seu tronco pode apresentar até 55 cm de diâmetro e conter de 8 a 20 folhas (BERGMANN *et al.*, 2013; VIRAPONGSE *et al.*, 2017).

Os frutos do buriti são produzidos quase todo o ano, com até 10 cachos por espécime, contendo entre 450 a 2000 frutos cada (SAMPAIO;

CARRAZZA, 2012; CARVALHO; ORLANDA, 2017), sendo que, as estimativas de produção populacional variam de 6,10 a 9,07 toneladas métricas/hectare.ano (VIRAPONGSE *et al.*, 2017).

Figura 1 – a) Mapa demonstrando a distribuição da *Mauritia flexuosa* na América do Sul. b) Foto da *Mauritia flexuosa*.



Fonte: a) Adaptado de (RULL; MONTOYA, 2014); b) (SAMPAIO, 2011).

O buriti é conhecido pelos nativos da Amazônia como “árvore da vida” e é usada há séculos, apresentando alto valor econômico, cultural e ecológico (KOOLEN *et al.*, 2013; CANTU-JUNGLES *et al.*, 2015; CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015). Segundo Virapongse *et al.* (2017) mamíferos, peixes, répteis, aves e anfíbios se alimentam, ou de alguma forma dependem da árvore para sobreviver. Desta maneira, a árvore desempenha um papel importante nas estratégias de conservação da fauna (MILANEZ *et al.*, 2016).

3.1.1 A fruta

As frutas são largamente consumidas pela população do Norte, Nordeste e do cerrado brasileiro, onde existe alta produção de buriti, principalmente na forma de doces, geleias, sorvetes, compotas e vinhos, devido principalmente ao seu sabor e aroma peculiares (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015; CÂNDIDO; SILVA, 2017).

Os frutos do buriti (Figura 2) possuem uma casca dura, escamosa e brilhante que vai do amarelo ao castanho-avermelhado, que por sua vez, cobre uma polpa macia e oleosa; são elípticos apresentando de 4 a 7 cm de comprimento e de 2 a 5 cm de diâmetro e possuem uma camada

celulósica branca, que fica entre a polpa e uma semente grossa e muito dura (CUNHA *et al.*, 2012; BERGMANN *et al.*, 2013; CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015; LIMA *et al.*, 2017).

O óleo do buriti é uma fonte alternativa interessante de tocoferóis, carotenoides e ácidos graxos monoinsaturados, sendo que, entre os óleos vegetais, o obtido da polpa de buriti é o que apresenta a maior concentração de carotenos (CUNHA *et al.*, 2012; CÂNDIDO; SILVA, 2017). Além disso, contém vitaminas A, C, e E, compostos fenólicos, ácidos graxos essenciais e fibras alimentares, sendo desta maneira, considerado um alimento funcional (CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015). Sua polpa é considerada uma das principais fontes de pró-vitamina A encontrada na biodiversidade brasileira (CANTU-JUNGLES *et al.*, 2015; NERI-NUMA *et al.*, 2018).

Figura 2 – Frutos de buriti.



Fonte: (SAMPAIO; CARRAZZA, 2012).

Na região onde a fruta é largamente produzida o buriti é usado contra queimaduras e como um potente vermífugo (KOOLEN *et al.*, 2013). O buriti pode ser utilizado nas indústria de alimentos e cosméticos, principalmente para produtos anti-envelhecimento, para banho e bloqueador de sol, pois apresenta baixa citotoxicidade nas formulações de cremes e loções, além de apresentar propriedades fotoprotetivas contra a irradiação UVA e UVB (CUNHA *et al.*, 2012; BERGMANN *et al.*, 2013; CORDEIRO; ALMEIDA; IACOMINI, 2015).

Costa *et al.* (2010) determinaram o conteúdo de tocoferóis de frutos das regiões norte e nordeste do Brasil e verificaram que o buriti apresenta alto conteúdo de tocoferol, destacando-se dentre as frutas

testadas, desta maneira, o resultado sugere que a fruta quando consumida *in natura* pode ser considerada fonte de Vitamina E.

3.1.2 A casca

Atualmente, a casca de buriti é usada como ração animal ou em alguns casos é usada juntamente com a polpa como matéria-prima para extração de óleo. No entanto, de maneira geral, ela é considerada como um resíduo, sem o descarte adequado (BARBOSA; LIMA; JUNIOR, 2010). Cerca de 2.500 toneladas/ano de casca de buriti são geradas na extração industrial do óleo de buriti (RESENDE; FRANCA; OLIVEIRA, 2019).

Há uma falta de informação relacionada ao uso da casca de buriti e, pelo que sabemos, apenas dois estudos estão disponíveis na literatura: um para a produção de carvão ativado e outro para a produção de farinha (JUNIOR *et al.*, 2014; RESENDE; FRANCA; OLIVEIRA, 2019). Estudos envolvendo a extração desse resíduo também são raros na literatura. França *et al.* (1999) descreveram a extração de casca de buriti juntamente com sua polpa e Tauchen *et al.* (2016) avaliaram a extração Soxhlet de diferentes plantas medicinais da Amazônia peruana e entre elas a casca do buriti. Pereira-Freire *et al.* (2018) fizeram extrações metanólicas de casca, polpa e endocarpo do buriti.

3.1.3 A semente

Com relação a essa parte do fruto existem poucos estudos da temática de compostos bioativos ou capacidade antioxidante: três artigos científicos (COSTA *et al.*, 2010, 2011; CONTRERAS-CALDERÓN *et al.*, 2011) e uma tese de doutorado (LUZIA, 2012). Os três artigos avaliaram a capacidade antioxidante tanto da polpa quanto da semente do buriti e compararam com outros frutos. Por outro lado, a tese tem seu foco apenas nas sementes dos frutos do cerrado brasileiro e este estudo revelou que a semente do buriti se destacou perante as outras sementes testadas apresentando a maior concentração de tocoferóis, esteróis, compostos fenólicos e carotenoides totais.

Os autores citados anteriormente que trabalharam com a extração de semente e casca de buriti utilizaram técnicas convencionais de extração, nenhum deles obteve estes compostos por técnicas não convencionais, desta maneira, este trabalho tem como um dos objetivos a obtenção de extratos da semente e casca de buriti com potencial

antioxidante por diferentes técnicas de extração (convencionais e não convencionais).

3.2 ANTIOXIDANTES

A seguir serão abordados alguns tópicos importantes sobre os antioxidantes que são necessários para o entendimento da importância de sua extração. Estes tópicos incluem sua definição e a sua importância tanto para a nossa saúde como para proteção nos alimentos. Serão citadas algumas técnicas convencionais e não convencionais utilizadas para a extração de antioxidantes naturais, assim como será abordado quais as técnicas utilizadas para a sua determinação, focando em duas técnicas fotométricas *in vitro* o DPPH e o ABTS.

3.2.1 Definição e sua importância

As substâncias que são conhecidas como antioxidantes, podem ser definidas, de uma maneira simples, como sendo as moléculas que previnem a oxidação de outros compostos (EMBUSCADO, 2015). Uma definição mais completa, proposta por Halliwell & Gutteridge (1995) trata os antioxidantes como “toda e qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com as de um substrato oxidável, atrase ou previna significativamente a oxidação desse substrato”.

Os antioxidantes são moléculas muito importantes para a nossa saúde e para a indústria alimentícia, na nossa saúde essas moléculas inibem os chamados radicais livres. Na indústria alimentícia seu uso é muito importante para evitar a oxidação de óleos e gorduras que ocorrem devido a presença de fatores externos como luz, oxigênio, além de outros parâmetros como temperatura e pH (BIANCHI; ANTUNES, 1999; RAMALHO; JORGE, 2006).

Os radicais livres são definidos como moléculas orgânicas e inorgânicas e átomos que contêm um ou mais elétrons não pareados com existência independente. Essa configuração faz com que essas moléculas sejam quimicamente muito reativas, e em grande concentração nas células podem provocar danos e morte celular. Os danos provocados nas células por estes radicais estão associados a doenças como câncer, doenças cardiovasculares e aterosclerose (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Os antioxidantes são uma forma de defesa prevenindo ou retardando os danos oxidativos causados por estes radicais tanto nos alimentos como na nossa

saúde (BIANCHI; ANTUNES, 1999; KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009).

O nosso organismo elimina os radicais livres através da ação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos são compostos pelas enzimas superóxido dismutase, catalase, NADPH-quinona oxidoreductase, glutathione peroxidase e enzimas de reparo. E os não enzimáticos são compostos por α -tocoferol, β -caroteno, ácido ascórbico (vitamina C), vitamina E, flavonoides, proteínas do plasma, selênio, glutathione, clorofilina, curcumina e L-cisteína (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

Com relação a sua origem os antioxidantes podem ser classificados como naturais ou sintéticos. Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria alimentícia são o BHT (butil-hidroxi-tolueno), TBHQ (terc-butil-hidroquinona, BHA (butil-hidroxi-anisol) e PG (propil galato) (RAMALHO; JORGE, 2006). No entanto o uso desses antioxidantes são regulados pelos órgãos governamentais devido aos seus potenciais efeitos de toxicidade (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Assim, o uso de antioxidantes naturais faz-se cada vez mais necessário de maneira a substituírem os sintéticos ou serem usados concomitantemente com os sintéticos reduzindo a sua concentração (RAMALHO; JORGE, 2006; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Dado o que foi exposto nesta seção verifica-se a importância da substituição dos antioxidantes sintéticos pelos naturais, pois os compostos sintéticos apresentam toxicidade ao nosso organismo. O consumo de antioxidantes naturais, por sua vez, aliado a uma vida saudável podem prevenir os danos oxidativos nas nossas células e as doenças relatadas anteriormente.

3.2.2 Obtenção de antioxidantes naturais

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de frutas, sementes, ervas e especiarias e são divididos em diferentes classes de compostos, tais como, vitaminas (vitamina C e vitamina E), carotenoides (carotenos e xantofilas) e compostos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos e ligninas) (ANDREO; JORGE, 2006; OROIAN; ESCRICHE, 2015).

Para facilitar o processo de extração e conservar os compostos antioxidantes algumas etapas preliminares são necessárias, como por exemplo, secagem, moagem e peneiramento das matérias-primas. A secagem é utilizada para inativação de enzimas que estão presentes nos vegetais. A moagem e o peneiramento são importantes para ter um tamanho de partícula uniforme aumentando a superfície de contato e

permitindo uma melhor transferência de massa (ANDREO; JORGE, 2006).

A extração é uma etapa que permite a separação dos compostos naturais desejados da matéria prima (ZHANG; LIN; YE, 2018). Ela pode ocorrer por técnicas convencionais como Soxhlet ou por técnicas não convencionais como extração assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom, extração com líquido pressurizado, extração com fluido supercrítico, extração assistida por enzimas, dentre outras (BELWAL *et al.*, 2018).

3.2.3 Técnicas de determinação da atividade antioxidante *in vitro*

Existem diferentes técnicas para a determinação da atividade antioxidante, sendo que a seleção de um ensaio adequado é muito difícil, pois os antioxidantes atuam por diferentes mecanismos e nenhum dos ensaios consegue capturar os vários modos de ação do antioxidante (BADARINATH *et al.*, 2010). Sendo assim, o que se preconiza atualmente é a utilização de duas ou mais técnicas, pois uma técnica empregada isoladamente não irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

A capacidade antioxidante é medida pelos efeitos antioxidantes no controle da extensão de uma reação de oxidação (KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009). Os métodos *in vitro* para a determinação da atividade antioxidante incluem o DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil), TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*), FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) e ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) (OROIAN; ESCRICHE, 2015; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Estes métodos são utilizados para medir a atividade antioxidante espectrofotometricamente em diferentes comprimentos de onda (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015), e todos eles têm em comum a presença de um oxidante, um substrato adequado e uma estratégia de medida do ponto final (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Dentre os métodos para determinação da atividade antioxidante dois são mais utilizados, sendo eles os radicais DPPH \cdot e o ABTS $^+$ (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ARNAO, 2000). Estes métodos apresentam como vantagens o fato de serem rápidos, apresentarem boa estabilidade, serem de fácil replicação e serem práticos (SUCUPIRA *et al.*, 2012). O método do ABTS ainda têm a vantagem de poder ser aplicado tanto para compostos hidrofílicos como lipofílicos (KUSKOSKI *et al.*, 2005). Ambos os métodos baseiam-se na mudança de cor, no caso do ABTS os antioxidantes capturam o cátion ABTS $^+$ e isso

ocasiona uma redução na absorvância. Já no DPPH os antioxidantes reduzem o DPPH que passa de uma cor púrpura para amarela (KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009).

3.3 CAROTENOIDES

Os carotenoides são a classe mais difundida de pigmentos isoprenóides (SAINI; KEUM, 2018). As moléculas são lipossolúveis e compreendem mais de 600 compostos responsáveis pelas cores vermelho, laranja e amarelo (MEZZOMO; MARTÍNEZ; FERREIRA, 2009; BUTNARIU, 2016).

Os carotenoides são divididos em duas classes: os carotenos e as xantofilas (RODRIGUEZ-AMAYA, 2019). Na primeira classe, estão inseridos β -caroteno e licopeno. Este grupo contém uma cadeia de hidrocarbonetos lineares apresentando em sua estrutura apenas átomos de carbono e hidrogênio (BUTNARIU, 2016; MEZZOMO; FERREIRA, 2016). As xantofilas (originalmente conhecidas como filoxantinas), por sua vez, são também hidrocarbonetos, porém apresentam pelo menos um átomo de oxigênio em sua estrutura. Neste grupo estão incluídas astaxantina e luteína (BUTNARIU, 2016; SAINI; KEUM, 2018).

A maioria dos pigmentos naturalmente encontrados nos reinos animal e vegetal são designados pelo termo genérico de carotenoides. Os organismos fotossintéticos e algumas bactérias e fungos não-fotossintéticos sintetizam carotenoides (BUTNARIU, 2016; MEZZOMO; FERREIRA, 2016; SAINI; KEUM, 2018).

Os carotenoides não podem ser sintetizados pelos seres humanos, sendo assim, estes compostos devem ser ingeridos, seja por alimentos ou via suplementação (EGGERSDORFER; WYSS, 2018). A deficiência deste grupo de moléculas resulta em alterações corneais incluindo xerofalmlia, cegueira noturna, ulceração da córnea entre outras (SOMMER, 2008). Além disso, a deficiência de vitamina A é um problema de saúde pública que afeta muitos países em desenvolvimento e leva à incapacidade visual em humanos e aumenta a mortalidade, principalmente infantil, devido a uma imunidade enfraquecida (MEZZOMO; FERREIRA, 2016; EGGERSDORFER; WYSS, 2018). Por outro lado, seu consumo está associado a uma série de benefícios como menor incidência de formação de catarata, incidência de câncer, degeneração macular e doenças cardiovasculares (SAINI; NILE; PARK, 2015).

Este grupo de compostos são empregados em diferentes indústrias como a alimentícia, farmacêutica, cosmética e de ração animal. No uso

industrial, estas moléculas podem ser empregadas a partir de extratos naturais ou com a utilização de corantes idênticos aos naturais. Para a sua utilização na indústria, os carotenoides naturais precisam ser extraídos de alguma fonte, seja ela, vegetal ou a partir de micro-organismos e algas. No passado a sua extração se dava principalmente com a utilização de solventes orgânicos, no entanto, com o aumento das restrições da utilização de solventes, por vezes tóxicos, outras técnicas e solventes menos nocivos ao ambiente estão sendo empregados (MEZZOMO; FERREIRA, 2016).

A vitamina A como foi citada é um problema de saúde pública e o β -caroteno é o principal precursor da pró-vitamina A (BUTNARIU, 2016). Desta maneira matrizes vegetais que tenham este composto em grande concentração e que possibilitem uma maior obtenção dessa molécula são de suma importância. Dentre as matrizes que possuem grande quantidade de carotenoides pode ser citado: o buriti, com concentração de carotenoides de $513,87 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato com uma concentração de β -caroteno de $372,32 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato (DE ROSSO; MERCADANTE, 2007), sendo portanto, uma das principais fontes de pró-vitamina A da biodiversidade brasileira (CANTU-JUNGLES et al., 2015).

3.4 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

Existem diferentes técnicas para obtenção de extratos que apresentam atividade antioxidante. Cada técnica contém seu fundamento de extração, sendo assim, cada uma delas pode obter extratos com diferentes características. A seguir, serão abordadas as técnicas de extração que foram utilizadas neste trabalho. Importante ressaltar que existem outras técnicas que não serão apresentadas nesta seção.

3.4.1 Extração por Soxhlet

Esta técnica tradicional de extração foi desenvolvida por Franz Ritter Von Soxhlet em 1879, sendo uma técnica que ocorre em pressão atmosférica e que faz a extração seletiva de compostos, dependendo do solvente utilizado (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; CHEN; URBAN, 2015; SAINI; KEUM, 2018). Fornece, comparativamente aos outros métodos, uma maior quantidade de óleo, devido ao fato, da amostra entrar em contato com o solvente puro por diversas vezes, por isso é comumente utilizada para avaliar o desempenho de outros métodos de

extração (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; FORNASARI *et al.*, 2017; SAINI; KEUM, 2018).

A eficiência do método depende principalmente (I) do **solvente utilizado** que, por sua vez, deve ser escolhido baseando-se nas características químicas e físicas da matriz e (II) da **umidade da matriz**, pois esta interfere em como o solvente entrará em contato com os analitos (FORNASARI *et al.*, 2017).

Esse método apresenta como vantagens o fato da amostra entrar em contato com o solvente várias vezes, nenhuma filtração após o processo se faz necessário, baixo custo de processo, apresenta maior rendimento mássico frente a alternativas mais recentes (Extração com fluido supercrítico, extração assistida por ultrassom e por micro-ondas, etc), além do fato de ser de fácil manipulação (CRESPO; YUSTY, 2005; CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010).

Entre as desvantagens do método estão o grande volume de solvente utilizada, que implica em custos de descarte e problemas ambientais, tempo de operação, necessidade de etapa de evaporação, não permite o emprego de agitação que aceleraria o processo e emprego de temperaturas altas que podem degradar compostos termolábeis (CRESPO; YUSTY, 2005; VIROT *et al.*, 2007; CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010; SAINI; KEUM, 2018)

As técnicas recentes de extração utilizam as vantagens e desvantagens do método para construir metodologias melhoradas (CASTRO; PRIEGO-CAPOTE, 2010), no próprio Soxhlet por exemplo, Extração Soxhlet a alta pressão, extração Soxhlet automatizada, extração Soxhlet assistida por ultrassom e por micro-ondas, são exemplos de técnicas Soxhlet mais recentes que buscam aumentar a eficiência do método (CHEN; URBAN, 2015).

3.4.2 Extração assistida por ultrassom

As ondas sonoras são divididas em três categorias que abrangem diferentes faixas de frequência, são elas: audíveis, infrassônicas e ultrassônicas; Nesta última, as frequências de onda estão entre a faixa audível (> 20 kHz) e a faixa de micro-ondas (até 10 MHz) (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; PICÓ, 2013; TIWARI, 2015). E é na faixa ultrassônica que ocorrem as extrações realizadas no aparelho de ultrassom (PANJA, 2017).

O ultrassom quando aplicado na extração é responsável por vários fenômenos físicos e químicos, sendo a cavitação o principal fenômeno envolvido (TIWARI, 2015). A cavitação é a força motriz da extração por

ultrassom (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017), sendo ela responsável pela formação de bolhas de gás microscópicas que colapsam devido a uma alta agitação. Quando isto ocorre, há uma alta liberação de energia criando zonas localizadas de alta pressão (50 a 2000 atm) e temperatura (aproximadamente 5000K) (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; TIWARI, 2015; CHEMAT *et al.*, 2017; PANJA, 2017). Apesar da alta temperatura local o calor gerado no colapso é dissipado rapidamente, pois as bolhas são pequenas, desta maneira, o aumento da temperatura do meio pode permanecer inalterado (RENARD, 2018).

Segundo Chemat, Zill-e-Huma & Khan, (2011) e Panja (2017) a extração de compostos em matrizes vegetais pode ser descrito por 4 etapas: (I) bolhas de cavitação são geradas na superfície da matriz (II) as bolhas geradas colapsam gerando um microjato em direção a superfície da matriz (III) a parede celular da matriz vegetal é rompida (IV) e, por fim, com o rompimento da parede, canais são abertos, isso permite a penetração do solvente na matriz ampliando, desta maneira, a transferência de massa.

Dois tipos de ultrassom são comumente utilizados para extração em laboratório: o banho ultrassom e a sonda ultrassônica (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017). O banho é a forma mais barata e mais disponível do ultrassom (PICÓ, 2013; VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017), porém quando comparado com a sonda oferece baixa reprodutibilidade e baixa potência do ultrassom (CHEMAT *et al.*, 2017).

A sonda ultrassônica, que é composta de uma liga de titânio, apesar de ser um pouco mais cara oferece maior poder de extração, isso porque a sonda é imersa diretamente na solução de extração, desta maneira, a perda de energia ultrassônica é mínima e a potência aplicada acaba sendo até 100 vezes maior que no banho, além disso, muitos ultrassons do tipo sonda permitem o ajuste das vibrações para um nível desejado (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; PICÓ, 2013; CHEMAT *et al.*, 2017). No entanto, deve se tomar certas precauções na utilização da sonda ultrassônica, isso porque amplitudes elevadas podem deteriorar a sonda (PICÓ, 2013). Além disso, o uso da sonda implica em um aumento constante na temperatura do meio (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011; PICÓ, 2013).

A capacidade do ultrassom de extrair compostos depende de características do equipamento (design do reator, forma da sonda potência, frequência, comprimento e amplitude da onda), propriedades do meio (viscosidade e tensão superficial), condições do meio (pressão, temperatura, solvente utilizado, pressão externa, presença de gases

dissolvidos) e características da matriz (grau de moagem, umidade presente, a razão da matriz frente ao solvente, a solubilidade dela no solvente, entre outros) (PICÓ, 2013; TIWARI, 2015; CHEMAT *et al.*, 2017).

O ultrassom apresenta algumas vantagens tais como: aumento da transferência de massa de maneira eficiente, menor quantidade de solvente utilizada, melhor penetração de solventes, compatível com qualquer solvente, os operadores podem operar com mais segurança, extração a baixas temperaturas, taxas de extração mais rápidas, menor custo de extração e em alguns casos maiores rendimentos de extração (PICÓ, 2013; PANJA, 2017; MARIĆ *et al.*, 2018). O método também oferece um menor tempo de extração quando comparado com os métodos convencionais e, em alguns casos, o ultrassom proporciona maior seletividade nas extrações (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017; MARIĆ *et al.*, 2018).

Uma das desvantagens do método é que a aplicação do ultrassom implica em redução do tamanho de partícula, estas podem ser pequenas a tal ponto, que a filtração pode ser dificultada, isso em uma escala industrial, aumenta os custos de pós-extração e podem tornar o processo menos viável economicamente (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017).

3.4.3 Extração com líquido Pressurizado

A PLE (*Pressurized Liquid Extraction*) foi descrita primeiramente em 1995 pela Corporação Dionex com o nome de *Acelerated Solvent Extraction Technology* (ASE[®]) (MUSTAFA; TURNER, 2011). Esta técnica também é conhecida na literatura por outras denominações como *Pressurized Fluid Extraction* (PFE), *Pressurized Hot-Solvent Extraction* (PHSE), entre outros. Em todos os casos, solventes pressurizados são mantidos no estado líquido durante a extração que pode empregar desde temperatura ambiente até altas temperaturas (200 °C) (HERRERO *et al.*, 2015).

Nesta técnica, a pressurização do sistema permite que o solvente esteja a temperatura acima do seu ponto de ebulição atmosférico, e isso implica em solubilidade e transferência de massa melhoradas (MUSTAFA; TURNER, 2011). A diminuição da viscosidade e da tensão superficial do solvente auxilia no rompimento das interações soluto-matriz e aumenta os coeficientes de difusão. De maneira geral, a elevação da temperatura aumenta a solubilização dos compostos no solvente, além

disso, a pressão favorece a penetração do solvente na matriz facilitando a transferência de massa (CAMEL, 2001; HOSSAIN *et al.*, 2011).

O PLE pode operar no modo estático, no modo dinâmico ou em uma combinação de ambos. No modo dinâmico, o solvente é bombeado continuamente na célula de extração a uma vazão constante (HERRERO *et al.*, 2013). O fato do solvente ser constantemente bombeado desloca o equilíbrio químico e a transferência de massa é acelerada (VAZQUEZ-ROIG; PICÓ, 2015). Por outro lado, a configuração estática consiste em deixar amostra e o solvente em contato a uma temperatura e pressão pré-estabelecidas por um determinado período de tempo. Esta configuração opera em um ciclo de extração ou vários com substituição do solvente entre os ciclos (CARABIAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2005; MUSTAFA; TURNER, 2011).

Segundo Vasquez-Roig & PICÓ (2015) o modo dinâmico tem eficiência de extração igual ou até mais alta que o modo estático. Além disso, uma das possíveis desvantagens do modo estático para o modo dinâmico é que a extração completa pode não ser obtida devido a um volume limitado do fluido de extração (MUSTAFA; TURNER, 2011).

O PLE tem sua capacidade de extração afetada por diferentes variáveis dentre as quais podem ser citadas pressão, temperatura, características da partícula (umidade, tamanho e forma da partícula), modo de operação (estático ou dinâmico), vazão (no modo dinâmico), número de ciclos (no modo estático) tempo e solvente (CARABIAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2005; HERRERO *et al.*, 2015).

De maneira geral, quando comparado as técnicas convencionais o PLE apresenta menor consumo de solvente e menor tempo de extração (VAZQUEZ-ROIG; PICÓ, 2015), sendo reconhecida portanto como uma tecnologia verde (“*green technology*”) (MUSTAFA; TURNER, 2011).

3.4.4 Extração assistida por micro-ondas

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas com comprimentos de onda variando de 1 mm a 1m com frequências de 300 MHz (1m) a 300 GHz (1 mm) (PANJA, 2017; MARIĆ *et al.*, 2018). No entanto, apesar de ter essa longa gama de frequências a mais utilizada nos aparelhos de micro-ondas para pesquisa em escala laboratorial é a de 2,45 GHz (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017; RENARD, 2018).

Na extração assistida por micro-ondas (EAM), ou do inglês *Microwave assisted extraction* (MAE), a extração dos analitos de interesse ocorrem devido a exposição direta da matriz às micro-ondas,

que promovem a rotação dipolar das moléculas e estas levam à quebra de ligações de hidrogênio fracas (CIULU *et al.*, 2017).

Nesta técnica, a extração pode ser realizada de duas maneiras distintas: uma que não se utiliza solvente, geralmente realizada para extrair compostos voláteis, e a outra, que utiliza solvente para extrair compostos que não são voláteis. (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017; ZHANG; LIN; YE, 2018). O primeiro método é conhecido como *solvent free microwave extraction* (SFME) e é muito utilizado para a extração de óleos essenciais, o segundo método, por sua vez, é conhecido apenas como MAE e é muito utilizado para extração de compostos bioativos (SETYANINGSIH *et al.*, 2015; NABET *et al.*, 2019).

Como existem duas maneiras distintas de realização da técnica o princípio de extração em cada uma delas difere um pouco. No primeiro caso, como o solvente não é utilizado a matriz deve apresentar uma determinada umidade para ocorrer a extração, pois a água presente no interior das células vegetais irá aquecer sob a irradiação de micro-ondas. A sua agitação molecular causada por essa irradiação promove um aumento na pressão interior das células, esse aumento é tão intenso que as paredes celulares são rompidas liberando então as moléculas de interesse (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017). No segundo caso, utiliza-se geralmente matrizes secas, ocorrendo, portanto, o aquecimento do solvente utilizado para a extração (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017). O aquecimento do solvente poderá ocorrer por dois mecanismos distintos o aquecimento dielétrico e a condução iônica. Na condução iônica os íons estão alinhados com o campo eletromagnético e o atrito entre o fluxo de íons e o restante do solvente gera calor, já no aquecimento dielétrico as moléculas giram de acordo com o seu momento de dipolo e se randomizam com a frequência do micro-ondas e esse movimento que gera calor e aquecimento do solvente (GILBERT-LÓPEZ *et al.*, 2017; PANJA, 2017).

Os principais parâmetros que influenciam na extração são potência de micro-ondas, tempo de extração, solubilidade, constante dielétrica, temperatura, agitação, solvente, relação amostra/solvente e características da partícula (umidade, tamanho e forma) (CONG-CONG *et al.*, 2017; PANJA, 2017; VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017). Na extração com micro-ondas a escolha do solvente é um fator muito importante. No PLE, por exemplo, os solventes são escolhidos baseando-se na solubilidade dos compostos. No caso do micro-ondas, além da solubilidade, a capacidade de absorver radiação é um fator muito importante, pois solventes como hexano, diclorometano e tolueno, por exemplo, não podem ser aquecidos com micro-ondas. Além disso,

existem solventes que tem alta capacidade de absorção de micro-ondas como etanol e metanol, por exemplo, e solventes com capacidade média de absorção como água e ácido acético (PANJA, 2017).

Dentre as vantagens do micro-ondas perante aos métodos convencionais, podem ser citados maiores rendimentos de extração com menores tempo e volume de solvente, menor consumo de energia e maior segurança para os operadores (CIULU *et al.*, 2017; PANJA, 2017; VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017). Uma das desvantagens do método é que após a extração uma etapa de filtração faz-se necessária (GILBERT-LÓPEZ *et al.*, 2017).

3.5 METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA

De maneira tradicional a técnica utilizada para otimização de um procedimento analítico é realizada através da observação da influência de um fator em uma determinada resposta experimental onde faz-se a variação de um parâmetro enquanto os outros são mantidos a um nível constante (CALEJA *et al.*, 2017; KARIMIFARD; REZA; MOGHADDAM, 2018). Essa técnica de variar apenas uma variável de cada vez é conhecida no inglês como “*one variable at a time*”. No entanto, ela apresenta como desvantagem o fato de não incluir os efeitos interativos que ocorrem entre as variáveis estudadas, além do fato, do número de experimentos necessários para conduzir a pesquisa ser maior, acarretando em maiores custos, mais tempo despendido nas análises, bem como aumento no consumo de materiais e reagentes (BEZERRA *et al.*, 2008).

Para superar esta desvantagem as técnicas estatísticas multivariadas foram criadas. Uma das técnicas estatísticas multivariadas mais conhecidas é a metodologia de superfície de Resposta (BEZERRA *et al.*, 2008), que é considerada uma ferramenta poderosa para encontrar a melhor faixa de condições operacionais em sistemas com um grande número de variáveis (KALIL; MAUGERI; RODRIGUES, 2000).

A metodologia de Superfície de Resposta, ou do Inglês “*Response Surface Methodology*” (RSM) é uma coleção de técnicas matemáticas e estatísticas que têm por objetivo fazer previsões estatísticas através de modelos que descrevam o comportamento de um conjunto de dados baseando-se no ajuste de uma equação polinomial aos dados experimentais (BEZERRA *et al.*, 2008; KARIMIFARD; REZA; MOGHADDAM, 2018). A técnica pode ser bem aplicada quando uma resposta ou um conjunto de respostas de interesse são influenciadas por diversas variáveis (BEZERRA *et al.*, 2008). A técnica fornece uma boa

descrição do espaço estudado com um menor número de experimentos (MAJDI; ESFAHANI; MOHEBBI, 2019).

A simulação e otimização de processos utilizando a metodologia de superfície de resposta consiste em 6 etapas: triagem das variáveis a serem estudadas, escolha do desenho experimental, execução dos experimentos e obtenção dos resultados, ajuste do modelo matemático aos dados experimentais, confirmação do modelo ajustado através dos gráficos e análise de variância e, por fim, a determinação da condição ótima (KARIMIFARD; REZA; MOGHADDAM, 2018).

Para aproximar a função resposta com os dados experimentais que não podem ser descritos por funções lineares, desenhos experimentais para superfícies de respostas quadráticas podem ser utilizadas tais como um fatorial três níveis, Box-Behnken, Composto Central e Doehlert (BEZERRA *et al.*, 2008; TARLEY *et al.*, 2009).

O desenho do composto central que foi utilizado neste trabalho é a forma mais popular da metodologia de superfície de resposta (HOSSAIN *et al.*, 2011) e foi apresentado por Box & Wilson (1951). Este desenho consiste em três partes: (a) uma parte fatorial fracionário ou fatorial completo (-1 e 1) (b) uma parte axial que estão a uma distância α do centro ($-\alpha$ e α) e (c) o ponto central (0) (BEZERRA *et al.*, 2008). Os pontos axiais que muitas vezes são incluídos ao desenho permitem a obtenção de um modelo com termos quadráticos para explicar o efeito da curvatura (CHEN *et al.*, 2017).

O delineamento do composto central rotacional apresenta as seguintes características: requer um número de experimentos de acordo com a equação (1); a distância do centro α depende do número de fatores e é dada pela equação (2) e; todos os fatores são estudados nos 5 níveis ($-\alpha, -1, 0, +1$ e $+\alpha$) (BEZERRA *et al.*, 2008).

$$N = K^2 + 2K + Cp \quad (1)$$

$$\alpha = 2^{(k)\frac{1}{4}} \quad (2)$$

Onde: **N** é o número de experimento, **K** é o número de fatores e **Cp** é o número de réplicas do ponto central.

Como foi citado anteriormente a última etapa para a otimização de um experimento multi-resposta é encontrar uma combinação do nível dos fatores, dentro da região experimental testada, em que as respostas se conduzem para a resposta buscada (que pode ser um máximo ou um mínimo, dependendo do processo). Para isso, duas abordagens de

otimização podem ser encontradas na literatura, uma delas se refere a sobreposição dos gráficos de contorno e a outra baseia-se na função de desejabilidade. O primeiro método não é muito utilizado uma vez que a sobreposição das curvas pode se tornar confuso, especialmente para grande número de fatores envolvidos (CALADO; MONTGOMERY, 2003; MONTGOMERY, 2009). Assim a segunda abordagem é mais utilizada (FITRIANTO; MIDI, 2011).

A abordagem baseada na função de desejabilidade foi proposta por Harrington (1965) e modificada por Derringer & Suich (1980) e introduz uma função de conveniência onde valores são associados a cada resultado do experimento, de maneira que é atribuído 0 para um valor de resposta indesejável e 1 para um valor de resposta desejável (GOETHALS; CHO, 2012). Após atribuir os valores, uma média geométrica dos resultados desejados é realizada, conferindo um valor de desejabilidade global (D). Em outras palavras, cada resposta y_i é transformada em uma função de desejabilidade d_i . Assim as variáveis são escolhidas de maneira a maximizar a desejabilidade global (D) (MONTGOMERY, 2009).

A desejabilidade do chamado “ótimo global” só será próximo de 1 se todas as respostas estiverem próximas dos seus “ótimos individuais”, pois a desejabilidade global é a média geométrica das desejabilidades individuais (AKÇAY; ANAGÜN, 2013).

3.6 ESTADO DA ARTE

Até o presente momento não existem muitos estudos de extração de compostos com atividade antioxidante utilizando casca e semente de buriti. Esses dois resíduos correspondem a uma grande parte da fruta e hoje são utilizados basicamente apenas para ração animal.

Com relação a casca existem dois trabalhos o de Tauchen *et al.* (2016) e o de Pereira-Freire *et al.* (2018) que fazem extrações com a casca em separado e existem trabalhos como o de França *et al.* (1999) que utilizam polpa e a casca como sendo uma matriz de extração.

Contreras-Calderón *et al.* (2011) e Luzia, (2012) fizeram extração com a semente e testaram suas atividades antioxidantes. Os trabalhos realizados por Costa *et al.* (2010) e Costa *et al.* (2011) determinaram a quantidade de fitoesteróis, tocoferóis e ácidos graxos presente na semente do buriti.

Os autores citados anteriormente não obtiveram seus extratos por diferentes técnicas de extração, com exceção de França *et al.* (1999) todos os outros autores utilizaram técnicas de extração convencionais. Essas técnicas por sua vez, em geral, apresentam maior quantidade de resíduos

gerada, e dispendem de maior tempo necessário para a sua execução. Técnicas como MAE, PLE e UAE, por sua vez, são conhecidas como “*Green Technologies*”, pois utilizam menor quantidade de solventes e necessitam de menor tempo de extração. Desta maneira, esse trabalho utilizou diferentes técnicas de extração e diferentes solventes para obtenção de extratos de casca e semente de buriti com o intuito de verificar suas atividades antioxidantes para uma possível aplicação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentados os materiais utilizados para a realização deste trabalho, assim como as metodologias necessárias para a sua execução. Assim serão descritos o local de coleta da matéria-prima, as etapas de sua preparação para a obtenção de sólidos de baixa granulometria e as técnicas utilizadas tanto para a obtenção dos extratos como para determinação de suas atividades antioxidantes. A Figura 3 resume as técnicas de extração utilizadas neste estudo, bem como as respostas analisadas.

Figura 3 - Fluxograma resumindo o que foi realizado neste trabalho.



PLE – *Pressurized Liquid Extraction*, MAE – *Microwave Assisted Extraction*, UAE – *Ultrasound Assisted Extraction*, SOX extração realizada em Soxhlet, TFT – Teor de Fenólicos Totais.

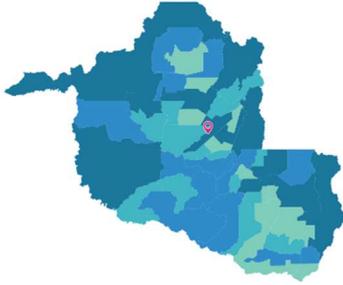
Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1 AQUISIÇÃO E PREPARO DA MATÉRIA PRIMA

4.1.1 Coleta das amostras

As frutas do buriti foram coletadas no dia 08 de janeiro de 2018 na cidade de Jaru-RO, mais especificamente a 15 km da cidade sentido a capital Porto Velho, cujas coordenadas eram 10°22'14 S e 62°34'18 W (Figura 4b). As amostras foram trazidas ao Laboratório de Termodinâmica e Tecnologia Supercrítica (LATESC) – UFSC onde as frutas íntegras foram separadas e armazenadas sob refrigeração (4 °C).

Figura 4 – a) Mapa do Estado de Rondônia com a cidade onde foi realizada a coleta em destaque; b) Imagem aérea do Google Earth do local da coleta dos frutos.



a) Estado de Rondônia (Município de Jaru em destaque).

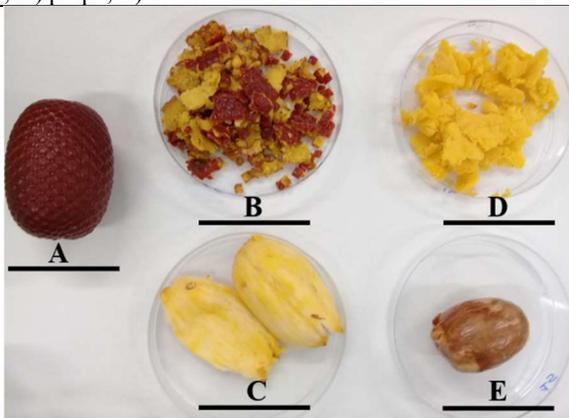
b) Local em que foi realizada a coleta do buriti.

Fonte: IBGE e Google Earth (2018).

4.1.2 Separação das partes do buriti

Após a separação dos frutos, os mesmos passaram por etapas de: lavagem com escova, sanitização (solução clorada 100 ppm por 10 minutos) e enxágue (solução clorada 10 ppm por 10 minutos). (SAMPAIO; CARRAZZA, 2012)

Figura 5 - Diferentes partes do buriti. A) Fruto do buriti; B) casca; C) endocarpo; D) polpa; E) semente.



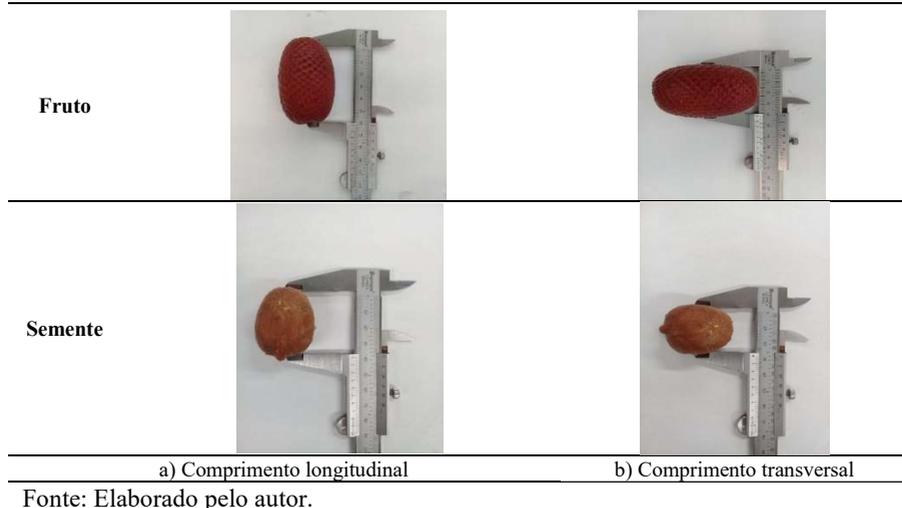
Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o enxágue os frutos foram caracterizados de acordo com Seção 4.1.3 (características físicas). Os frutos seguiram para o descascamento onde foram deixados imersos em água clorada (10 ppm por 18 horas) para o amolecimento da casca. A casca e o endocarpo, conhecido popularmente como bucha, foram retirados com o auxílio de uma faca e a polpa foi raspada com uma colher. Após a retirada das sementes uma amostra correspondendo a 10% do valor total, foi utilizada para verificação das características físicas (Seção 4.1.3). Todas as 4 partes do fruto (Figura 5) foram separadas e colocadas em sacos de polietileno e reservadas em freezer doméstico a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.1.3 Características Físicas do fruto e da Semente de Buriti

Avaliou-se as seguintes características do fruto e da semente do buriti: comprimento longitudinal e transversal com o auxílio de um Paquímetro Starrett 125 MEA e a massa com o auxílio de balança analítica Shimadzu AY220. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

Figura 6 - Imagens correspondentes as medições do comprimento longitudinal e transversal do fruto e da semente do buriti.



4.1.4 Determinação do percentual das partes do Buriti

Foram selecionadas ao acaso 5 frutas para a determinação do percentual correspondentes das partes do buriti. As partes separadas do fruto (casca, semente, endocarpo e polpa) foram colocadas em suas respectivas placas e, em seguida, pesadas.

O cálculo foi realizado a partir da equação (3):

$$\%PF = \frac{m_{pf}}{m_f} \times 100\% \quad (3)$$

Onde: **%PF** é o percentual da parte do fruto; **mpf** é a massa da parte do fruto, expressa em g; e **mf** é a massa total do fruto, expressa em g.

A análise foi realizada em 5 frutos e os resultados estão expressos em média e desvio padrão.

4.1.5 Preparação das amostras

As sementes do buriti foram quebradas com o auxílio de um torno de bancada e, posteriormente, secas em estufa de circulação de ar (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) por 60 horas a 30 °C. As cascas foram secas na mesma estufa por 48 horas a 30 °C.

As sementes e cascas secas foram então moídas em moinho de facas tipo Willey (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) e reservadas em sacos de polietileno a - 18 °C até a realização das extrações.

4.1.6 Determinação do teor de umidade e substâncias voláteis

A umidade foi determinada na semente e na casca de buriti antes e após a etapa de secagem (descrita na seção anterior). Foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

A umidade foi determinada de acordo com a metodologia da (AOAC, 2005), em que 3 g de amostra foram adicionadas em cadinhos de alumínio previamente secos e pesados, as amostras foram então levadas a estufa de circulação de ar (De Leo, Porto Alegre/RS, Brasil) a 105 °C. Após 3 horas retirou-se os cadinhos, estes ficaram resfriando a temperatura ambiente em dessecador e, logo em seguida, pesados. Estas operações de aquecimento e resfriamento foram realizadas até peso constante.

O cálculo da umidade foi realizado conforme a Equação (4).

$$U [\%] = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100\% \quad (4)$$

onde: **U** é a umidade expressa em porcentagem; **M₁** é a massa de amostra inicial e **M₂** é a massa da amostra seca, ambas expressas em g.

4.1.7 Determinação do Diâmetro médio superficial

O diâmetro médio superficial foi determinado por ensaio em agitador de peneiras (Bertel Metalurgic Ind. Ltda., Caieiras/SP, Brasil) durante 30 min com peneiras de 6, 16, 20, 25, 32, 48, 65 e 80 mesh (série Tyler, W.S. Tyler, Wheeling, EUA). Mediu-se a massa das frações retidas de cada peneira e calculou-se o diâmetro médio superficial das partículas através das equações (5) e (6) propostas por Gomide (1983):

$$\Delta\varphi_i = \frac{m_i}{M} \quad (5)$$

$$\overline{D}_S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta\varphi_i}{D_i}}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta\varphi_i}{D_i^3}}} \quad (6)$$

Onde: \overline{D}_S : é o diâmetro médio superficial, expresso em mm; $\Delta\varphi_i$ é a fração retida em cada peneira *i*; \overline{D}_i é o diâmetro da peneira *i*, expresso em mm; m_i é a massa retida na peneira *i*, expressa em g; e **M** é a massa total de amostra, expressa em g.

A análise foi realizada em triplicata e os resultados estão expressos em média e desvio padrão.

4.1.8 Determinação da massa específica real de partículas

Determinou-se a massa específica real utilizando a técnica de picnometria em gás Hélio (Accu Pyc II 1340 da Micromeritics), onde uma determinada quantidade de amostra que preenche $\frac{3}{4}$ de um cadinho de alumínio de 10 cm³ é colocada no aparelho. O gás Hélio elui sobre a amostra penetrando nos poros da matriz e o volume da amostra é medido descontando o volume dos poros. Após a medição do volume do sólido a densidade real é determinada e então mostrada no aparelho. O

equipamento fornece os valores médios e o desvio padrão após 10 medidas realizadas (MOURA; FIGUEIREDO, 2002).

Essa análise foi realizada para as amostras de casca, semente de buriti e esferas de vidro em duplicata e os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

4.1.9 Porosidade do leito de partículas

A porosidade do leito de partículas (ε) formado nos ensaios de PLE foi calculado a partir da equação (7). Onde ρ_a é a massa específica aparente do leito, ρ_{ra} é a massa específica real da amostra e ρ_{re} é a massa específica real das esferas de vidro.

$$\varepsilon = 1 - \left[\frac{1}{V} \times \left(\frac{m_a}{\rho_{ra}} + \frac{m_e}{\rho_{re}} \right) \right] \quad (7)$$

Onde: V é o volume do leito, ρ_{ra} é a massa específica real da amostra, ρ_{re} é a massa específica real das esferas de vidro, m_a é a massa de amostra utilizada para compor o leito e m_e é a massa de esferas utilizada para compor o leito.

A massa das amostras foi determinada utilizando balança analítica sendo que foram pesados 3 g de amostra e 33 g de esferas de vidro. E o volume foi determinado através das medidas de altura e diâmetro do leito utilizando um paquímetro. Essa análise foi realizada em duplicata e os resultados foram expressos em média e desvio padrão.

4.2 EXTRAÇÕES

4.2.1 Extração com Soxhlet

As extrações foram realizadas segundo o método 920.39C da AOAC (2005). Para a sua realização 5 g de amostra foram envolvidas em um cartucho de papel filtro e então inseridas no extrator. Foram utilizados 150 mL dos solventes testados (hexano, água, etanol e etanol:água 50% v/v) que ebuliam, condensavam e entravam em contato com a amostra, eram descarregados no balão e este ciclo se repetiu por um total de 6 horas. Após as extrações a solução foi evaporada em evaporador rotativo (Fisatom, modelo 801, São Paulo, Brasil) para a remoção do solvente e os extratos foram armazenados em frascos âmbar e reservados em freezer doméstico a -18°C .

As análises foram realizadas tanto para casca como para a semente do buriti em triplicata e os resultados estão expressos em média e desvio padrão.

4.2.2 Extração assistida por ultrassom

As extrações assistidas por ultrassom foram realizadas de acordo com Heleno *et al.* (2016) com algumas modificações. Para isso, utilizou-se de um dispositivo ultrassom de ponteira (Eco-Sonics, modelo QR500, Indaiatuba, SP –BR) que opera na potência entre 100 a 500 W, a uma frequência de 20 kHz com temporizador digital. Para a realização da extração 5 g de amostra foram pesadas em um béquer de 250 mL, sob esta quantidade de amostra foram adicionados 150 mL dos solventes analisados (hexano, água, etanol e etanol:água em misturas de 20, 50 e 80%), a macroponteira do ultrassom foi submersa no líquido em uma altura de 0,5 cm, no centro do béquer. As extrações foram realizadas durante 15 minutos em uma potência de 500 W. Após as extrações a solução foi filtrada em papel filtro qualitativo QUALY (gramatura de 80 g, 15 cm de diâmetro) e o filtrado obtido foi evaporado para a remoção do solvente no evaporador descrito na seção 4.2.1.

As análises foram realizadas tanto para casca como para a semente do buriti em triplicata e os resultados estão expressos em média e desvio padrão.

4.2.3 Extração assistida por micro-ondas

As extrações assistidas por micro-ondas foram realizadas baseando-se no trabalho de Mazzutti *et al.* (2017) com algumas modificações. Para isso utilizou-se de um micro-ondas (Monowave™ 300, Anton Paar), que opera até uma pressão de 20 bar, potência máxima de 850 W e podendo chegar a uma temperatura máxima de 260 °C. As temperaturas utilizadas foram medidas com a utilização de um sensor de infravermelho.

No frasco de reação fabricado em vidro borossilicato foram adicionados 1 g de amostra, juntamente com 20 mL de solução etanol-água 80% (v/v) e uma barra magnética. Esse frasco era fechado com uma tampa que continha silicone revestido de Teflon e então introduzido no aparelho, onde as condições de operação eram escolhidas. O tempo e a agitação foram fixados em 10 min e 1000 rpm, respectivamente, e as temperaturas escolhidas foram 70, 100 e 130 °C. As condições previamente estabelecidas eram executadas pelo micro-ondas da seguinte

maneira: 1) aquecimento até a temperatura desejada, 2) reação (10 minutos a 1000 rpm) e 3) resfriamento utilizando ar comprimido até a temperatura de 55 °C.

Após as extrações as soluções foram filtradas em papel filtro qualitativo QUALY (gramatura de 80 g, 15 cm de diâmetro) e o filtrado obtido foi evaporado para a remoção do solvente em equipamento descrito na seção 4.2.1.

As análises foram realizadas tanto para casca como para a semente do buriti em triplicata e os resultados estão expressos em média e desvio padrão.

4.2.4 Extração com líquido pressurizado

4.2.4.1 Cinética de Extração

Primeiramente realizou-se uma cinética de extração com o equipamento de extração com líquido pressurizado para determinar o tempo de processo para os ensaios de rendimento. O equipamento assim como o procedimento experimental foram descritos por Andrade, Trivellin & Ferreira (2017). O leito foi preenchido com 3 g de amostra, com 33 g de esferas de vidro e algodão. Etanol foi bombeado para o leito a uma vazão de 3 mL.min⁻¹ com uma bomba de HPLC (Waters, modelo 515, EUA, taxa de fluxo de volume de 0,001 a 10 mL.min⁻¹) até que o mesmo atingiu a pressão de 100 bar. O solvente passou também por um banho de aquecimento (Microquímica, Brasil) onde era atingida a temperatura de trabalho (50 °C), sendo o leito também encamisado. A vazão utilizada foi 3 mL.min⁻¹ e, após atingida as condições de processo (50 °C e 100 bar) abriu-se a válvula e começou-se a fazer a coleta das amostras em tubos de ensaio a cada 3 minutos até atingir 30 minutos e, após esse tempo, as amostras foram coletadas a cada 5 minutos em um tempo total de 90 minutos de extração.

O solvente presente nos extratos foi removido em evaporador rotativo (equipamento descrito na seção 4.2.1) após 3 lavagens com 3 mL de etanol cada. A cinética só foi realizada com a casca do buriti. Após a construção da curva foram ajustadas 3 retas com a função linear aos pontos experimentais da cinética de extração. Esta função está implementada no *software* ORIGIN 2016 (Origin, Microcal software, Inc.; Northampton, Massachusetts USA) como “Piecewise Linear with three segments (PWL3)”.

4.2.4.2 Rendimento

Com base na curva cinética, foi definido o tempo de processo para os ensaios de PLE. Os ensaios para a determinação do rendimento de extração consistiram de um modo dinâmico PLE e foram realizados a uma pressão constante de 10 MPa, com base na literatura (HERRERO *et al.*, 2013). O delineamento do Composto Central (DCC) foi selecionado para a otimização dos parâmetros. Com base nos ensaios preliminares, os limites superior e inferior para as variáveis do processo foram: temperatura (T) 28,79 °C a 71,21 °C, enquanto o solvente, mistura etanol-água (E) 7,57 a 92,43 (o delineamento completo pode ser observado na Tabela 1). Sendo que para fins práticos e considerando as limitações experimentais os valores foram estabelecidos em temperaturas de 28 a 71 °C e concentração de etanol na solução de 7 a 92%. As soluções obtidas foram levadas em evaporador rotativo descrito na seção 4.2.1 e os extratos foram armazenados a -18 °C na ausência de luz. As extrações descritas nesta seção foram realizadas apenas para a casca de buriti. Após a determinação da condição ótima, houve a extração da semente do buriti nesta condição.

Do desenho utilizado cinco variáveis dependentes: X_0 (rendimento de extração), TCT (teor de carotenoides totais), TFT (teor de fenólicos totais), DPPH e ABTS, foram avaliadas e codificadas como Y_1 , Y_2 , Y_3 , Y_4 e Y_5 , respectivamente. Estas respostas foram medidas de acordo com os seguintes fatores: Temperatura (T) (°C) e etanol (E) (conteúdo em %) e codificadas como X_1 e X_2 , respectivamente. Estas variáveis do processo foram investigadas em cinco níveis, fornecendo 11 combinações de condições de processo, com três réplicas no ponto central do experimento (Tabela 1).

A influência de (T) e (E) nas respostas foi avaliada usando o seguinte modelo linear quadrático Equação (8).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 \quad (8)$$

Onde: Y é variável dependente; β_0 é o intercepto; β_1 e β_2 são os coeficientes lineares; β_{11} e β_{22} são os coeficientes quadráticos; β_{12} é o coeficiente de interação, X_1 e X_2 são as variáveis independentes.

A qualidade do modelo e a significância estatística dos coeficientes foram avaliadas, e superfícies de resposta e diagramas de Pareto foram plotados para mostrar o efeito da temperatura e teor de etanol nas respostas analisadas. Para isso, foi utilizado o programa Statistica

(StatSoft, Inc.; www.statsoft.com, v.13.0, EUA). As condições ótimas individual e global foram calculadas pelo método proposto por (Derringer & Suich (1980) através da função de Desejabilidade implementada no Statistica. A função de desejabilidade é uma função definida como a média geométrica ponderada da conveniência individual. Seu valor vai de 0 a 1 sendo que 0 indica uma resposta completamente indesejável e 1 uma resposta totalmente desejável. Assim, o processo de otimização simultânea é utilizado para encontrar os níveis de fatores que demonstram a máxima desejabilidade geral (BEZERRA *et al.*, 2008).

Tabela 1 - Delineamento experimental utilizado para a obtenção de extratos de casca de buriti no PLE.

Ensaio	Variável codificada		Variável Real	
	T (°C)	E (%)	T (°C)	E (%)
1	-1	-1	35	20
2	1	-1	65	20
3	-1	1	35	80
4	1	1	65	80
5	0	0	50	50
6	0	0	50	50
7	0	0	50	50
8	$-\alpha$	0	28,79	50
9	α	0	71,21	50
10	0	$-\alpha$	50	7,57
11	0	α	50	92,43

Fonte: elaborado pelo autor.

4.3 ANÁLISE DOS EXTRATOS OBTIDOS

4.3.1 Rendimento de extração

O rendimento das extrações foi determinado através da equação (9):

$$X_0 = \frac{ME \times 100\%}{A} \quad (9)$$

Onde: X_0 é o rendimento de extração expresso em porcentagem; ME é a massa de extrato obtida, expressa em g; e A é a massa da amostra, expressas em g.

4.3.2 Teor de Fenólicos Totais

O teor de fenólicos totais foi realizado conforme Kosar, Dorman & Hiltunen (2005) com algumas modificações. Inicialmente construiu-se uma curva analítica de ácido gálico. Para isso 10 mg de ácido gálico foram diluídos em água destilada num balão volumétrico de 5 mL. Essa solução (2 mg.mL⁻¹ de ácido gálico) foi diluída sucessivamente (1:1 v/v) até a obtenção de uma solução com 0,031 mg.mL⁻¹ de ácido gálico. Em seguida, 10 µL das soluções de ácido gálico foram pipetadas para um tubo Eppendorf de 2 mL que já continha 0,6 mL de água destilada. 50 µL de reativo de Folin foram adicionados ao meio e então a solução foi agitada em vortex. Após a agitação foram adicionados a este meio 150 µL da solução de carbonato de sódio 20 % (m/v) e 190 µL de água destilada. Os tubos foram agitados, e então incubados durante 2 h, a temperatura ambiente e sob ausência de luz. Passado o tempo mediu-se a absorbância das soluções em um espectrofotômetro (FEMTO, 800 XI, São Paulo, SP, Brasil) a 760 nm. A curva padrão do ácido gálico foi construída e está representada em absorbância *versus* concentração do ácido gálico (Figura 17). Juntamente com a curva está expressa a equação que descreve a relação entre a absorbância e a concentração de ácido gálico.

Os extratos obtidos utilizando água, etanol ou suas misturas foram diluídos em etanol-água 70% (v/v) enquanto os obtidos com hexano em uma solução de etanol-hexano (70:30 v/v) e o procedimento de reação de oxidação foi o mesmo descrito anteriormente, somente substituindo as soluções de ácido gálico pelas amostras a serem analisadas. Para o branco o procedimento foi o mesmo somente substituindo a solução de ácido gálico pelo solvente em que a amostra foi diluída. Os valores obtidos da absorbância para cada uma das amostras foram subtraídos do valor do branco e foram correlacionados com a curva analítica de ácido gálico através da equação da reta obtida. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em mg de equivalente em ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g de extrato) através da equação (10), e estão expressos como média e desvio padrão.

$$TFT\left(\frac{mg\ EAG}{g\ de\ extrato}\right) = \frac{EAG \times 1000}{CA} \quad (10)$$

Onde: **TFT** é o teor de fenólicos totais, expresso em mg EAG por grama de extrato; **EAG** é o equivalente em ácido gálico expresso em mg EAG

por mL; CA é a concentração da amostra expresso em (mg de extrato por mL).

4.3.3 Teor de Carotenoides Totais

A determinação do teor de carotenoides totais (TCT) foi baseado no método de Kuhnen *et al.* (2009) com modificações. Para a construção da curva de calibração, 10 mg de beta caroteno padrão espectrofotométrico foram pesados e diluídos em 50 mL de solução metanol:hexano:acetona (50:25:25 v/v/v); essa solução mãe foi utilizada para obter 4 mL de soluções com concentrações de 6 a 0,3125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Essas soluções (6 a 0,3125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) foram colocadas em eppendorfs (triplicata) e foram lidas a 450 nm e a curva padrão obtida está expressa na Figura 17.

Para determinação dos carotenoides nos extratos, 0,15 g de amostra foram diluídas em 4,5 mL de solução metanol:hexano:acetona (50:25:25 v/v/v). Esta mistura foi colocada em banho ultrassom (Eco-Sonics, Ultronique Q3.0/37 A, Indaiatuba, SP, Brasil) durante 2 min, e em seguida em centrífuga para tubos (Quimis, modelo Q222T, Diadema, São Paulo, Brasil) em uma velocidade de 3400 rpm durante 10 min. Na sequência recolheu-se o sobrenadante e mediu-se a absorvância em comprimento de onda de 450 nm. A análise foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos como média e desvio padrão.

4.3.4 Atividade antioxidante

4.3.4.1 DPPH

A análise da atividade antioxidante pelo método do 2,2 – *Diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) foi realizado com base no método de Mensor *et al.* (2001), em que os extratos obtidos utilizando água, etanol ou suas misturas foram diluídos em etanol-água 70% (v/v), enquanto os obtidos com hexano foram dissolvidos em uma solução de etanol-hexano (70:30 v/v). Esses extratos foram diluídos de maneira a se obter uma concentração de 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, essa solução foi submetida a diluições sucessivas para encontrar a curva em que pode-se observar a redução do radical DPPH em 50%. Para isso, 0,710 μL das amostras foram pipetadas em um eppendorf juntamente com 0,290 μL de uma solução estoque de DPPH 0,3 mM. O branco consistiu em 0,710 μL de amostra com 0,290 μL do solvente utilizado para a diluição das amostras. O controle consistiu em 0,710 μL de etanol com 0,290 μL da solução estoque de DPPH. As

soluções repousaram durante 30 min, sob ausência de luz e, em seguida, leu-se suas absorvâncias em um comprimento de onda de 517 nm no espectrofotômetro descrito na seção **Erro! Fonte de referência não encontrada.** Após as leituras foi realizado o cálculo da Atividade antioxidante pelo método de DPPH que está expresso na Equação (11).

$$AA (\%) = 100 - \left[\frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{Abs_{controle}} \right] \quad (11)$$

Onde: **AA** é a atividade antioxidante expressa em porcentagem, e; **Abs_{amostra}**, **Abs_{branco}** e **Abs_{controle}** referem-se as absorvâncias da amostra, do branco e do controle, respectivamente. Os resultados foram posteriormente convertidos em valores de EC₅₀, utilizando as curvas obtidas para cada uma das amostras e as análises foram realizadas em triplicata e estão expressos como média e desvio padrão.

4.3.4.2 ABTS

A capacidade antioxidante dos extratos de casca e de semente de buriti foram avaliadas pelo método ABTS, segundo metodologia proposta por Re *et al.* (1999) com algumas modificações. O radical ABTS foi gerado pela reação, na ausência de luz e a temperatura ambiente, de uma solução de 7 mM de ABTS com uma solução de 139,8 mM de persulfato de potássio em um tempo total de 16 h. A solução aquosa de ABTS⁺ foi diluída com tampão fosfato de sódio 5 mM a pH 7,4 até uma absorvância de 0,7 (± 0,05) a 734 nm.

Os extratos obtidos utilizando água, etanol ou suas misturas como solventes foram diluídos em etanol-água 70% (v/v) enquanto os extratos obtidos com hexano foram diluídos em uma solução de etanol-hexano (70:30 v/v). Esses extratos foram diluídos de maneira a se obter uma concentração de 10 mg.mL⁻¹, essa solução foi submetida a diluições sucessivas. 30 µL das diluições foram misturados com 970 µL da solução ABTS⁺ descrita anteriormente. Após 45 minutos, na ausência de luz e a temperatura ambiente a absorvância foi lida a 734 nm.

O Trolox foi utilizado como padrão de referência e os valores foram calculados a partir da curva padrão (de 0,25 a 2 mM). Os valores de cada amostra testada no ensaio dão uma resposta linear entre 20 e 80% da absorvância do branco. Os resultados foram expressos em mmol de equivalente em trolox por g de extrato (ET) a partir de medidas em triplicata.

4.3.5 Identificação e quantificação de compostos fenólicos por LC-ESI-MS/MS

4.3.5.1 Preparação da amostra

A preparação da amostra seguiu o protocolo de Schulz *et al.* (2015) com algumas modificações. Os extratos da casca e semente de buriti foram desengordurados com hexano, onde 0,2 a 0,5 g de amostra eram colocados em tubos falcon juntamente com 25 mL do solvente, essa solução foi colocada no banho ultrassom descrito na seção (4.3.3) por 15 minutos e, em seguida, centrifugados a 3400 rpm na centrífuga citada na seção 4.3.3 por mais 15 minutos, após duas lavagens sucessivas com hexano, os extratos foram submetidos a hidrólise ácida com 5 ml de metanol e 5 ml de ácido clorídrico a 85 °C durante 30 min. O pH foi então ajustado para 2,0 por uma solução de ácido clorídrico 1 mol.L⁻¹ e, quando necessário corrigida com solução de hidróxido de sódio 6 mol.L⁻¹. As amostras acidificadas foram particionadas utilizando 10 mL de éter etílico e centrifugadas a 3400 rpm, na centrífuga descrita anteriormente, durante 10 min. Este processo de particionamento com éter etílico foi realizado três vezes para cada amostra. Os sobrenadantes dos ensaios foram rotaevaporados a 40 °C (equipamento descrito na seção 4.2.1) para remoção do solvente. A amostra seca foi ressuspensa em 1 mL de metanol grau cromatográfico e diluído 10 vezes com solução metanol:água (30:70 v/v) para a injeção no sistema LC-ESI-MS/MS.

4.3.5.2 Análise no LC-ESI-MS/MS

A identificação e quantificação dos compostos fenólicos presentes nas amostras do extrato foram realizadas pelo sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (1200 Series, Agilent Technologies, Waldbronn-BW, Alemanha), conforme metodologia descrita por Schulz *et al.* (2015). Uma coluna Synergi (4,0 µm, 2,0 × 150 mm d.i.; Phenomenex, Torrance-CA, EUA) foi utilizada para a separação cromatográfica, sob condição de gradiente de eluição. As fases móveis foram compostas por misturas de metanol a 95% e água a 5% (v/v), canal A, e água e ácido fórmico a 0,1% (v/v), canal B. A separação foi realizada a 30 °C utilizando uma eluição de gradiente segmentada como se segue: 0-5 min, 10% A; 5 a 7 min, 90% A; 7 a 10 min, 90% A; 10-17min, 10% A. Entre as análises, a coluna foi condicionada por 5 min com a proporção da fase móvel inicial da separação. A taxa de fluxo foi ajustada em 150

$\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ com injeção de amostras de 10 μL . O sistema de HPLC foi acoplado a um sistema de espectrometria de massa composto por um espectrômetro de massa híbrido triplo quadrupolo/armadilha de íon linear (Q Trap 3200 Applied Biosystems / MDS Sciex, Concord-ON, Canadá). O espectrofotômetro de massa operou em modo de ionização de eletropulverização negativa (TurboIonSpray Applied Biosystems/MDS Sciex, Concord-ON, Canadá). Os parâmetros MS/MS foram: agulha capilar mantida a -4500V ; gás de cortina a 10 psi; a temperatura a $400\text{ }^{\circ}\text{C}$; gás 1 e gás 2 a 45 psi; e gás CAD, médio. O software Analyst versão 1.5.1 foi utilizado para o controle e análise de dados do sistema HPLC-ESI-MS/MS.

4.4 ANÁLISE DE DADOS

Os resultados de rendimento, atividade antioxidante (DPPH e ABTS), teor de fenólicos totais para as diferentes técnicas de extração foram analisados estatisticamente por análise unidirecional de variância (ANOVA) utilizando o software Statistica descrito anteriormente. As diferenças significativas ($p < 0,05$) foram analisadas pelo teste de Tukey.

O coeficiente de correlação de Pearson (r) foi calculado para verificar a dependência linear entre o teor de fenólicos totais e as atividades antioxidantes pelos métodos de DPPH e ABTS. Para isso, utilizou-se o programa Statistica descrito anteriormente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO FRUTO E DA SEMENTE DE BURITI

Na Tabela 2 são apresentadas as características físicas médias do fruto e da semente de buriti. O comprimento longitudinal do buriti variou de 46 mm até 65 mm, já para a semente o valor variou de 34 a 41 mm. Da mesma maneira, o comprimento transversal do fruto variou de 38 a 44 mm e da semente de 25 a 29 mm. A massa do fruto variou de 42 a 71 g e da semente de 16 a 25 g.

Os valores encontrados neste trabalho para o fruto estão entre os valores apresentados por Cândido & Silva (2017), que verificaram as características físicas do buriti de dois estados, Goiás e Pará, onde para o comprimento longitudinal os valores obtidos por eles foram de $57,39 \pm 2,31$ mm e $44,81 \pm 2,00$ mm para Goiás e Pará, respectivamente. Para o comprimento transversal os autores encontraram $51,74 \pm 1,93$ mm e $36,79 \pm 2,21$ mm para frutos do Goiás e do Pará, respectivamente. Por fim, a massa média dos frutos em gramas em Goiás foi de $74,85 \pm 7,81$ g e $30,81 \pm 3,25$ g para o Pará. Carneiro & Carneiro (2011) comparou seu trabalho com diferentes trabalhos e, com isso, constatou que o comprimento longitudinal do fruto varia de 3 a 7 cm, enquanto que o comprimento longitudinal varia de 2 a 5 cm. A massa, por sua vez, de 15 a 75 g.

Tabela 2 - Características físicas do fruto e da semente do buriti.

	Comprimento longitudinal* (mm)	Comprimento transversal* (mm)	Massa* (g)
Fruto	$52,50 \pm 5,61$	$41,40 \pm 1,51$	$56,20 \pm 8,88$
Semente	$38,50 \pm 2,39$	$27,60 \pm 1,35$	$21,90 \pm 2,88$

*Valores Expressos em média \pm desvio padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores encontrados neste trabalho são superiores ao encontrado por Matos *et al.* (2014) para o comprimento longitudinal da semente do buriti, onde os autores encontraram o comprimento das sementes variando de 23 a 27 mm. Para o comprimento transversal foram relativamente próximos $27,60 \pm 1,35$ mm, neste trabalho, contra $25,80 \pm 0,15$ mm dos autores. Já a massa da semente encontrada neste trabalho foi superior a encontrada por estes autores $21,90 \pm 2,88$ g contra $8,82 \pm 0,13$ g dos autores. Os dados morfométricos de frutas e sementes são muito

influenciados por variações latitudinais, sazonais e microclimáticas (MATOS *et al.*, 2014) o que explica a diferença dos resultados. No entanto, é muito importante citar que tanto os resultados demonstrados aqui, assim como, os encontrados pelos autores, demonstram a importância da valorização da semente que, como pode ser verificado, corresponde há uma grande parte do fruto.

5.2 PERCENTUAIS ENCONTRADOS PARA CADA UMA DAS PARTES DO BURITI

As diferentes partes da fruta do buriti, como mostradas na Figura 5, foram caracterizadas e os resultados são mostrados na Tabela 3, que apresenta as médias percentuais de casca, polpa, endocarpo e semente presentes no buriti. Como pode ser verificado, a semente é a parte majoritária, correspondendo em média a 39,99% do fruto, sendo seguida da polpa (23,42%) e da casca (21,70%); desta maneira, o endocarpo é o componente de menor expressão no fruto correspondendo a 11,99 % do fruto.

Os valores obtidos neste trabalho estão dentro dos valores encontrados por Barbosa, Lima & Junior (2010) que caracterizaram frutos do buriti na região de Alto Alegre/Paredão em Roraima, onde estes autores caracterizaram 5 grupos distintos e encontraram os percentuais da casca variando de 19,49 a 25,19%, da polpa variando de 18,56 a 29,18%, do endocarpo variando de 9,81 a 27,06 % e a semente variando de 28,88 a 41,52%. Essa diferença pode decorrer de diferentes aspectos, tais como, o solo (pH, teor de nutrientes), a idade da árvore, a espécie e condições climáticas que acabam por ocasionar com frutos de diferentes características.

Tabela 3 - Médias dos percentuais de casca, polpa, endocarpo e semente presentes no buriti.

Parte do fruto	Parte do fruto relativo ao total (%) *
Casca	21,70 ± 1,11
Polpa	23,42 ± 1,07
Endocarpo	11,99 ± 1,47
Semente	39,99 ± 1,94

*Valores Expressos em média ± desvio padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os dados da Tabela 3, assim como os apresentados na Tabela 2, são de suma importância neste estudo, uma vez que este trabalho aborda o reaproveitamento de resíduos, a sua quantificação é muito importante.

É possível observar que, para um fruto em que praticamente só a polpa é aproveitada, a quantidade de “resíduo” é bem significativa e casca e semente correspondem a aproximadamente 62% do peso do fruto.

5.3 CARACTERÍSTICAS DAS PARTÍCULAS

A Tabela 4 apresenta as características das amostras de partículas. Os diâmetros médios foram 0,39 e 0,40 mm para semente e casca de buriti, respectivamente. Estes valores estão dentro da faixa citada por Belwal *et al.* (2018) que aborda que as partículas devem ser pequenas com tamanho variando de 100 µm a 2 mm para que haja uma maior área de superfície de contato entre amostra e solvente. Uma maior área de superfície de contato facilita a penetração do solvente aumentando a transferência de massa, implicando, desta maneira, em um maior rendimento (HERRERO *et al.*, 2013; BELWAL *et al.*, 2018; RENARD, 2018).

Tabela 4 - Características das partículas utilizadas para a obtenção dos extratos de semente e casca de buriti.

Característica da Partícula	Semente	Casca
Diâmetro médio (mm)	0,39 ± 0,04	0,40 ± 0,04
Massa específica real (g/cm ³)	1,39 ± 0,05	1,14 ± 0,00
Porosidade do leito*	0,40 ± 0,00	0,38 ± 0,00
Umidade antes da secagem (%)	50,11 ± 0,09	68,12 ± 0,65
Umidade após a secagem (%)	7,86 ± 0,05	7,92 ± 0,08

*Porosidade do leito calculado para o PLE.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A secagem da partícula também é um parâmetro muito importante uma vez que a presença de água pode diminuir a eficiência de extração, principalmente quando solventes apolares, como o hexano, são utilizados (CARABIAS-MARTÍNEZ *et al.*, 2005). Além do fato, de que a sua presença pode acelerar reações químicas na matriz estudada. Os valores de umidade encontradas neste trabalho após a secagem foram 7,86 e 7,92 %, para semente e casca, respectivamente.

Pérez *et al.* (2018) avaliaram o rendimento de extração com hexano de “*sunflower collets*” em diferentes umidades, mais precisamente 5,65, 12 e 18% e identificaram que o menor rendimento de óleo foi obtido com 5,65% de umidade, e o maior, por sua vez, foi em 12%. Adejumo; Inaede & Adamu, (2013) fizeram extração com Soxhlet utilizando hexano como solvente e também verificaram a influência da umidade no rendimento de extração, os autores testaram as seguintes umidades 7,28, 10, 15 e 20% e

encontraram o maior valor de rendimento em 10%. Kim *et al.* (2015) testaram o efeito da umidade no rendimento de extração utilizando etanol:água (70:30 v/v) de raízes de *Platycodon grandiflorum* onde eles testaram as umidades de 4, 6 e 8% e encontraram o maior valor de rendimento para esta última. Como pode-se perceber a umidade interfere nos rendimentos de extração e, de maneira geral, a presença de água livre em determinada concentração é necessária para garantir um maior rendimento. Estes resultados também dão um indicativo de que valores de umidade próximos a 10% são os que conduzem a um maior rendimento de extração, justificando a secagem da casca e da semente para valores próximos a 10%.

A altura do leito composto por amostra e esferas de vidro foi de 20,5 cm, tanto para a casca como para a semente de buriti, ocupando uma coluna com raio de 0,625 cm. Estes valores representaram um volume ocupado de 25,16 cm³.

A porosidade do leito foi determinada considerando-se os valores de massa específica real das amostras (Tabela 4) e das esferas de vidro (2,54 g/cm³), resultando em ϵ de 0,38 e de 0,40 para a casca e para a semente de buriti, respectivamente. A porosidade do leito afeta o escoamento do solvente e, conseqüentemente o rendimento de extração. A observação das características geométricas do leito é importante para garantir a reprodutibilidade e comparação dos resultados de extração. Além disto, para futuros estudos de modelagem dos processos de extração, a porosidade representa um importante parâmetro para descrever o processo de transferência de massa no sistema.

5.4 EXTRAÇÃO COM LÍQUIDO PRESSURIZADO

Os resultados obtidos nesta seção foram realizados somente para a casca, devido ao fato, de estudos preliminares indicarem que esta apresentava maiores rendimentos de extração e maiores valores de atividade antioxidante. Somente a condição ótima global citada na seção 5.4.4 foi utilizada para extração da semente utilizando PLE e os seus resultados serão apresentados a partir da seção 5.5.

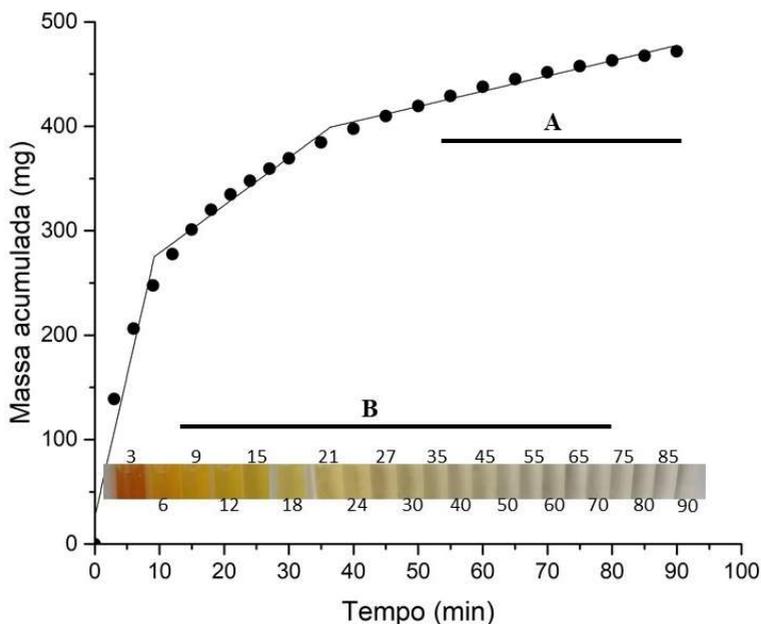
5.4.1 Cinética de Extração obtido para a casca de buriti

O método PLE foi realizado considerando o tempo de extração definido pelo ensaio cinético (seção 4.2.4.1), que fornece a curva de extração representada na Figura 7. Sendo o ensaio experimental realizado a 50 °C, com vazão de 3 mL.min⁻¹, pressão de 100 bar e utilizando etanol

como solvente. Na Figura 7 é apresentada a massa de extrato acumulado em função do tempo de extração (os dados são apresentados na Tabela 16 do Apêndice).

Três retas foram ajustadas à curva da cinética de extração, como mostrado na parte A da Figura 7. A parte inferior da figura (parte B) representa a cor dos extratos recuperados em cada intervalo de tempo.

Figura 7 -A) Cinética de extração da casca de buriti utilizando o PLE*. B) Decaimento da coloração do extrato com o tempo.



*Parâmetros da Cinética T= 50°C, P=100 bar; Vazão = 3 mL.min⁻¹ Solvente= Etanol.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Uma regressão linear simultânea foi realizada para os dados experimentais e auxiliam nas definições das diferentes etapas da curva (FERREIRA *et al.*, 1999). A curva começa com o período de taxa de extração constante (CER), seguido pela taxa de extração decrescente (FER) e pelo período difusional (DIF). Segundo Brunner (1994), as etapas CER e FER normalmente recuperam cerca de 70% do material extraível. Por outro lado, a etapa difusional é a mais lenta e tem a difusão com mecanismo de transferência de massa dominante. É possível observar, a

partir da curva de extração, uma redução da massa do extrato em cada intervalo de tempo, que é acompanhado pela descoloração do extrato recuperado (Figura 7-parte B). Isso ocorre porque no início da extração, controlada por convecção, há soluto disponível na superfície da partícula e o soluto facilmente recuperável é extraído em até 12 min, representando o período de CER (dessorção rápida) e o produto apresentando uma cor amarela intensa. Então, na etapa FER, inicia-se a recuperação dos compostos dentro das partículas, combinando convecção e difusão. A partir deste estágio, a cor do extrato muda significativamente do amarelo intenso para um amarelo mais claro (de 12 a 40 min). Observando a figura, detectamos que o período difusional (após 40 min de extração) é combinado com a diminuição de cor no extrato recuperado.

É importante enfatizar que, em um intervalo de tempo estabelecido, o tempo tem um efeito positivo no rendimento da extração. Por outro lado, em um dado momento, um equilíbrio químico é estabelecido. Neste momento, a concentração de soluto é igual dentro e fora do material sólido. Desta forma cessando a transferência de massa e, conseqüentemente, o tempo não tem influência significativa na extração (ZHANG; LIN; YE, 2018). Com base nas informações acima, o tempo de extração foi estabelecido em 40 min, pois após esse tempo a massa do extrato recuperado era insignificante.

5.4.2 Influência da temperatura e do conteúdo de etanol nos extratos de casca de buriti

5.4.2.1 Influência no rendimento de extração por PLE da casca de buriti

Os extratos de casca de buriti obtidos com a técnica de líquido pressurizado tiveram seu rendimento variando de 16,82 a 25,16% (Tabela 5) e estes resultados foram comparados ao extrato obtido por Soxhlet com etanol (e estes resultados são discutidos na seção 5.4.5).

A influência das variáveis de processo: Temperatura (T) e do teor de etanol (E) misturas etanol:água (v/v) no rendimento do PLE foram avaliadas pela aplicação da Equação (8), sendo que foi considerado duas abordagens: (a) um modelo de primeira ordem desprezando os parâmetros quadráticos β_{11} e β_{22} ; e (b) o modelo de segunda ordem considerando todos os coeficientes descritos na Equação (8). Para o modelo de primeira ordem foram aplicados os ensaios de 1-7 (que incluem somente 3 níveis -1, 0 e 1), e para os de segunda ordem os níveis $-\alpha$ e $+\alpha$ foram

considerados e a adição destes permite a obtenção de efeitos de curvatura quadrática (CHEN *et al.*, 2017).

Os coeficientes obtidos para o modelo, os coeficientes de determinação R^2 , de determinação ajustado R^2_{ajustado} , e o valor de p para a falta de ajuste são apresentados na Tabela 6. O valor da falta de ajuste indica se o modelo estatístico se ajusta bem aos dados experimentais. Se o valor de p para a falta de ajuste for menor ou igual a 0,05 (marcados em negrito na Tabela 6) pode-se concluir que o modelo não apresenta corretamente uma relação do modelo com os dados experimentais, indicando que o modelo precisa ser melhorado. Por outro lado, se $p > 0,05$ pode-se afirmar que o teste não indica falta de ajuste, ou seja, o modelo se ajustou bem aos dados experimentais.

Os resultados demonstram que para o rendimento o modelo de segunda ordem descreveu melhor a influência de T e E, com R^2 e R^2_{ajustado} de 0,911 e 0,821, respectivamente. O modelo está descrito na equação (12).

Tabela 5 – Delineamento do composto central com as variáveis reais T e E e sua influência nos extratos de casca de buriti obtidos no PLE quanto a seu rendimento (X_0), teor de carotenoides totais (TCT), teor de fenólicos totais (TFT) e na atividade antioxidante pelo método DPPH e ABTS.

ENSAIOS	VARIÁVEIS INDEPENDENTES		VARIÁVEIS DEPENDENTES				
	T (°C)	E (%)	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅
			X ₀ (%)	TCT $\mu\text{g E}\beta\text{C.g}^{-1}$	TFT mg EAG.g^{-1}	DPPH $\text{EC}_{50}^{\#}$ ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	ABTS mmol ET.g^{-1}
1	35	20	20,61	29,52	163,88	44,60	2,51
2	65	20	23,24	23,38	169,26	31,09	2,66
3	35	80	16,82	678,77	164,73	48,62	2,69
4	65	80	20,83	615,90	170,05	38,14	2,70
5	50	50	23,76	93,60	151,68	44,93	2,01
6	50	50	20,65	73,56	147,88	41,42	2,33
7	50	50	22,39	69,27	145,05	45,05	2,03
8	28,79	50	19,85	60,12	162,32	44,05	2,44
9	71,21	50	25,16	128,21	172,02	47,01	2,11
10	50	7,57	22,27	104,56	143,37	42,29	1,87
11	50	92,43	17,00	1056,59	154,34	43,12	2,25
Sox-EtOH	-	-	21,20 \pm 1,58	1132,15 \pm 23,93	162,36 \pm 9,55	42,36 \pm 0,22	3,51 \pm 0,30
BHT	-	-	-	-	-	305,2 \pm 3,30	7,70 \pm 0,12

*Atividade antioxidante para uma concentração de 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. #Concentração efetiva para uma inibição de 50%.

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 6 – Coeficientes de Regressão, coeficientes de determinação e os valores de p para o teste da falta de ajuste dos modelos de primeira e segunda ordem.

COEFICIENTES DE REGRESSÃO									
MODELO DE PRIMEIRA ORDEM									
	β_0	β_1	β_2	β_{11}	β_{22}	β_{12}	R^2	R^2_{ajus}	Falta de ajuste (p -value)
X_0 (Y_1)	20,155	0,072	-0,090	-	-	$7,7 \times 10^{-4}$	0,658	0,315	0,252
TCT (Y_2)	-312,406	0,426	11,924	-	-	-0,032	0,772	0,544	0,001
TFT (Y_3)	149,230	0,180	0,016	-	-	-0,000	0,045	0,000	0,018
DPPH (Y_4) EC_{50}	47,119*	0,100	-0,284	-	-	0,002	0,839	0,677	0,209
ABTS (Y_5)	2,000	0,007	0,006	-	-	$-8,0 \times 10^{-5}$	0,043	0,000	0,063
MODELO DE SEGUNDA ORDEM									
X_0 (Y_1)	16,370*	0,105	0,070	$-2,5 \times 10^{-4}$	-0,002*	$7,7 \times 10^{-4}$	0,911	0,821	0,906
TCT (Y_2)	230,055	-1,561	-15,500*	0,034	0,279*	-0,032	0,996	0,992	0,097
TFT (Y_3)	271,777*	-5,006*	-0,212	0,052*	0,003	-0,000	0,811	0,622	0,155
DPPH (Y_4) EC_{50}	35,038	0,542	-0,123	-0,006	$-6,7 \times 10^{-4}$	0,002	0,429	0,000	0,143
ABTS (Y_5)	4,295	-0,085	-0,002	$8,7 \times 10^{-4}$	$9,6 \times 10^{-5}$	$-8,0 \times 10^{-5}$	0,350	0,000	0,163

Valores de p para a falta de ajuste $<0,05$ estão marcados em negrito e indicam que o modelo não se ajusta bem os dados experimentais.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y_1 = 16,370 + 0,105 X_1 + 0,070 X_2 + 7,7 \cdot 10^{-4} X_1 X_2 - 2,5 \cdot 10^{-4} X_1^2 - 0,002 X_2^2 \quad (12)$$

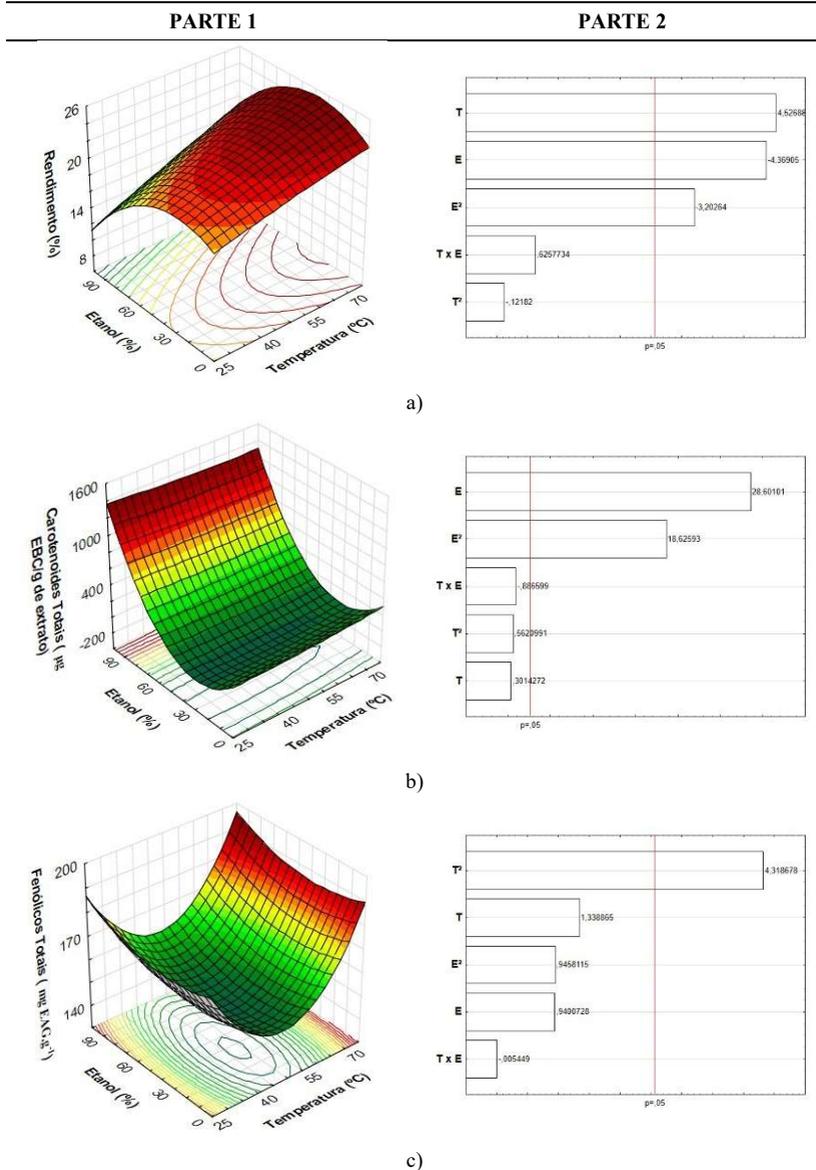
A superfície de resposta gerada (Figura 8 a – Parte 1) pelo modelo de segunda ordem mostra que os maiores valores de rendimento são obtidos para as temperaturas mais altas e teor de etanol entre 30 e 40%.

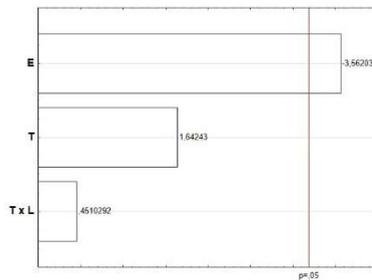
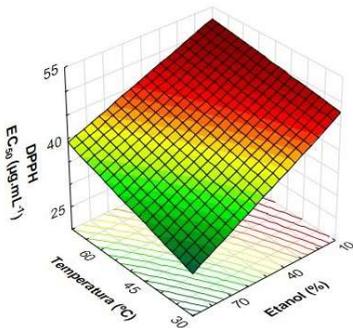
O diagrama de Pareto (Figura 8 a - parte 2) mostra os efeitos da temperatura e do etanol nesta resposta. A variável de maior influência no rendimento é a temperatura, que apresenta um efeito positivo, ou seja, o aumento na temperatura amplia os rendimentos de extração. A segunda variável de maior influência foi o teor de etanol, com efeito negativo, ou seja, o aumento do teor de etanol (nas misturas etanol:água) reduz o rendimento do processo.

Nesta pesquisa, o etanol tem uma resposta inversamente proporcional ao rendimento de extração. Em todos os casos, quando o T foi mantido constante e o teor de etanol aumentou, o rendimento diminuiu (Tabela 5). Estes resultados estão de acordo com Syahariza *et al.* (2017) e Tripodo *et al.* (2018) que estudaram *Momordica charantia* e *Lycium barbarum L.*, respectivamente. O uso de misturas de solventes aumenta a variedade de compostos solubilizados, diminuindo a seletividade, mas também aumentando a interação do analito alvo com a mistura, uma vez que um solvente melhora a solubilidade do analito, o outro aumenta sua dessorção. Desta forma, a mistura de solventes promove maiores valores de rendimento (MUSTAFA; TURNER, 2011). O fato do rendimento ter diminuído com a concentração de etanol pode estar ligado também ao índice de polaridade da mistura enquanto a água tem índice de polaridade 9,00, o etanol tem índice de polaridade de 5,20 (Tabela 10). Desta maneira, podemos inferir que os extratos de buriti apresentam maior quantidade de compostos com polaridades próximas a da água.

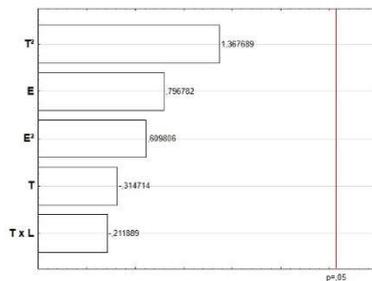
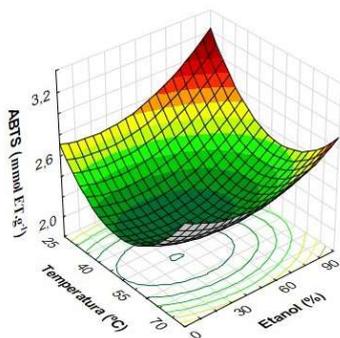
Por outro lado, na concentração constante de etanol, o rendimento aumenta com o aumento da temperatura do processo, dentro da faixa de variáveis estudadas. Em temperaturas mais altas, a taxa de difusão e a solubilidade do analito (soluto) aumentam, favorecendo o rendimento do processo (SYAHARIZA *et al.*, 2017). Além disso, as fortes interações entre matriz e soluto devido às forças de Van der Waals, pontes de hidrogênio e atrativos dipolares são mais facilmente rompidas com o aumento da temperatura (RICHTER *et al.*, 1996), que também afetam a redução da viscosidade do solvente, permitindo maior penetração de solvente na matriz sólida (TRIPODO *et al.*, 2018).

Figura 8 – Superfícies de Resposta (PARTE 1) e Diagramas de Pareto (PARTE 2) para as respostas analisadas. a) Rendimento; b) Carotenóides Totais; c) Teor de Fenólicos Totais; d) DPPH expresso em EC_{50} ; e) ABTS.





d)



e)

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4.2.2 Influência no teor de carotenoides totais dos extratos de casca de buriti

Os resultados do conteúdo de carotenoides foram expressos em μg de equivalente em betacaroteno ($\text{E}\beta\text{C}$) por g de extrato (Tabela 5). Para tanto, os resultados obtidos estão correlacionados com uma curva padrão de betacaroteno (disponível no Apêndice) ($R^2 = 0,997$). Os resultados deste experimento variaram de 23,38 a 1056,59 $\mu\text{g E}\beta\text{C.g}^{-1}$ de extrato. O modelo de segunda ordem ($R^2 = 0,996$) foi utilizado para descrever a relação entre o conteúdo de carotenoides e as variáveis independentes. Os coeficientes do modelo estão descritos na Tabela 6.

As temperaturas avaliadas não demonstraram efeito significativo sobre o conteúdo de carotenoides (Figura 8b – Parte 2) (valor de $p < 0,05$). Por outro lado, etanol e etanol quadrático, ambos influenciaram positivamente no teor de carotenoides. A superfície de resposta gerada

(Figura 8 b -Parte 1) demonstra claramente que o etanol foi quem mais influenciou nesta resposta. Para a temperatura, a influência é mínima (há um leve declive negativo quando a temperatura é aumentada).

O efeito da concentração de etanol no TCT está associado à solubilidade dos carotenoides na mistura de solventes. Estas moléculas são principalmente apolares e pouco solúveis em água (BUTNARIU, 2016), portanto, o aumento na concentração de etanol nas misturas de solventes aumenta a solubilidade dos carotenoides. A 20 bar e com concentração de etanol variando de 0 a 10% (v/v), a solubilidade do β -caroteno, principal carotenóide presente no buriti (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015), aumentou de 93,254 para 200,32 ppm a 70 °C e de 10,96 a 107,25 a 100 °C (MOTTAHEDIN; ASL; LOTFOLLAHI, 2017).

Mustafa, Trevino & Turner (2012) realizaram extração com líquido pressurizado na cenoura, estudando este sistema com uma faixa de temperatura de 60-180 °C, diferentes ciclos de extração (1-5) e tempo de processo (2-10 min.). Os autores verificaram que as quantidades de β -caroteno e α -caroteno extraídos foram maiores a 60 °C, indicando degradação dos carotenoides com aumento da temperatura. Além disso, Calvo, Dado & Santa-María (2007) demonstraram que uma faixa de temperatura entre 25 a 60 °C é suficiente para degradar carotenoides como β -caroteno, fitoflueno e fitoeno em até 1/3. Portanto, a baixa influência da temperatura no TCT pode estar relacionada à solubilidade dos carotenoides e sua degradabilidade, em relação às condições de temperatura e solvente. Em geral, a temperatura aumenta a solubilidade dos compostos, no entanto, o aumento da temperatura, acima de certo ponto, não influencia mais a solubilidade e inicia a degradação (MOTTAHEDIN; ASL; LOTFOLLAHI, 2017).

Os maiores valores de teor de carotenoides obtidos para os extratos de casca de buriti foram das amostras 3, 4 e 11 apresentadas na Tabela 5 com valores de 678,77; 615,90 e 1056,59 $\mu\text{g E}\beta\text{C}$ por g de extrato, respectivamente. Pereira-Freire *et al.* (2018) encontraram 883 $\mu\text{g E}\beta\text{C}$ por g de extrato em extrato de casca de buriti extraídos com metanol.

Comparando os valores de carotenoides da casca de buriti com valores encontrados para a polpa por diferentes autores Cândido, Silva & Agostini-costa (2015) e França *et al.* (1999), detectaram 528,6 e 777 μg de carotenoides totais por g de polpa de buriti, respectivamente. As diferenças com o presente trabalho são principalmente devido a parte da fruta, ou seja, a literatura mostrou dados para a polpa de buriti, enquanto que neste trabalho os dados são para a casca. Outro aspecto é a forma de apresentação dos resultados, neste trabalho são expressos em

equivalente em β -caroteno, enquanto alguns autores quantificaram os carotenoides em HPLC ou por espectrofotometria, e usaram o coeficiente de absorvidade molar para obter seus resultados. A origem da matéria-prima também afeta o conteúdo de carotenoides, que são metabólitos secundários e dependem da interação da planta com o meio ambiente. Esses metabólitos fazem com que as plantas se adaptem a seus *habitats*, protegendo-os contra fatores físicos e climáticos e contra predadores e patógenos (VALLI; RUSSO; BOLZANI, 2018). Regiões onde a incidência de luz solar é mais alta, como a Amazônia (onde esta fruta foi coletada) são mais propensas a apresentar maiores quantidades de carotenoides, como demonstrado por Cândido, Silva & Agostini-Costa (2015). Esses autores, por exemplo, encontraram 311,3 e 528,6 μg de carotenoides totais por g da amostra no bioma Cerrado e Amazônia, respectivamente.

5.4.2.3 Influência no Teor de Fenólicos Totais

O teor de fenólicos totais (TFT) está expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por g de extrato e variou de 143,37 a 172,02 (Tabela 5). Para isso, os resultados obtidos estão correlacionados com uma curva padrão de ácido gálico (apresentada no apêndice e cujo R^2 é 0,980). Os coeficientes do modelo estão descritos na Tabela 6 e utilizou-se o modelo de segunda ordem ($R^2 = 0,811$) para descrever a relação entre o TFT e as variáveis independentes.

A relação positiva entre a temperatura e o TFT encontrado neste trabalho também foi observada por Ciulu *et al.* (2017) em *Stevia rebaudiana*. A superfície de resposta gerada por Tripodo *et al.* (2018) também mostrou que a concentração máxima de fenólicos totais foi obtida na maior temperatura e com o maior teor de etanol (mistura etanol-água) avaliadas.

A superfície de resposta gerada para TFT em função das variáveis do processo é mostrada na Figura 8c- Parte1, onde o maior teor de fenólicos totais é detectado na temperatura mais alta e maior concentração de etanol no solvente. Além disso, observando o gráfico de Pareto para TFT (Figura 8c-Parte 2), a variável quadrática de temperatura foi a única que influenciou o TFT, com nível de confiança de 95% (p-valor <0,05).

Comparado com os resultados de TFT obtidos por Tauchen *et al.* (2016) para a casca de buriti (461,5 mg EAG. g de extrato), os resultados encontrados neste trabalho foram menores, variando de 143,37 a 172,02 mg EAG por g de extrato. Os menores valores encontrados neste trabalho, podem ser devido a diferentes fatores: a) metodologias utilizadas para

extração (enquanto este trabalho utilizou PLE os autores utilizaram a Soxhlet) b) matéria-prima de diferentes localidades (que passaram por condições climáticas e condições de solo diferentes) c) metodologia de fenólicos utilizada (os autores usam uma solução de carbonato de sódio de 12,5% para reagir na solução final enquanto deste trabalho é 20%). Por outro lado, os resultados encontrados neste trabalho são superiores aos encontrados por Pereira-Freire *et al.* (2018) que obtiveram 13 mg de EAG por g de casca de buriti. Assim como, são superiores aos encontrados em outros estudos para a polpa de buriti (KOOLEN *et al.*, 2013; CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015; SCHIASSI *et al.*, 2018).

O efeito positivo da temperatura no TFT é provavelmente devido ao aumento da solubilidade com o aumento da temperatura, que também promove maiores taxas de transferência de massa (CIULU *et al.*, 2017).

5.4.2.4 Influência na atividade antioxidante

A fim de avaliar as propriedades funcionais dos extratos de casca de buriti, a atividade antioxidante foi obtida pelos métodos ABTS e DPPH. Considerando a diversidade de mecanismos desempenhados pelo composto antioxidante, ensaios combinados para detectar essa atividade são necessários. O ensaio ABTS é expresso em mmol de equivalente em Trolox (ET) por g de extrato e o DPPH é expresso em EC_{50} ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) (e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5). O modelo de primeira ordem foi utilizado para descrever o DPPH ($R^2 = 0,872$) e o modelo de segunda ordem para representar o ABTS ($R^2 = 0,350$).

As superfícies de resposta geradas (Figura 8 d-e - Parte 1) para os dois métodos demonstram que os valores máximos foram obtidos para baixa temperatura e alto teor de etanol. Os diagramas de Pareto Figura 8 d-e - Parte 2) mostram uma influência positiva significativa ($p > 0,05$) do etanol em Y_4 (DPPH) embora nenhuma influência tenha sido detectada para análise de ABTS.

Os resultados do ABTS variaram de 1,87 a 2,70 mmol ET por g de extrato, o que representa um valor de 283,45 a 382,90 μmol ET por g de casca fresca. Não foram encontrados dados de ABTS para a casca de buriti para comparação por essa metodologia. Para a polpa por outro lado, Cândido, Silva & Agostini-Costa (2015) encontraram 46,63 μmol ET por g de polpa de buriti e Schiassi *et al.* (2018) encontraram 6,03 μmol ET por g de polpa fresca de buriti.

Com relação ao DPPH Koolen *et al.* (2013) obtiveram EC_{50} de 19,58 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ para polpa de buriti enquanto os resultados do presente estudo variaram de 31,09 a 47,01 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Tabela 5). Os outros dois

trabalhos que trabalham com casca de buriti e apresentam dados para DPPH a comparação não é possível, isso porque Tauchen *et al.* (2016) expressaram seus resultados em equivalente em Trolox e Pereira-Freire *et al.* (2018) encontraram um valor de $EC_{50} 0,1 \pm 0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$, este último resultado com um desvio igual ao valor da média, o que põe em dúvida o valor encontrado pelos autores.

Não foi possível a comparação dos resultados obtidos de atividade antioxidante de casca de buriti com a mesma matéria-prima, mas sabe-se que diferenças entre as atividades podem ser decorrentes da técnica de extração utilizada, fonte das matérias-primas que podem ser afetadas pelas condições do solo, condições climáticas, entre outros fatores (SCHIASSI *et al.*, 2018). Além disso, em geral, as cascas apresentam maior atividade antioxidante que as polpas, pois protegem os frutos contra agentes externos, como microrganismos e insetos (RESENDE; FRANCA; OLIVEIRA, 2019).

A atividade antioxidante do antioxidante sintético Butil-Hidroxitolueno (BHT) apresentado na Tabela 5, foi menor que a obtida para os extratos de casca de buriti recuperados por PLE. Esse comportamento deve-se provavelmente à presença de compostos fenólicos do extrato de casca de buriti (Tabela 7), como ácido cafeico e ácido protocatecuico, que possuem um poder antirradical superior ao BHT, sendo 9,1 e 7,14, respectivamente, em comparação com 4,20 do BHT (WILLIAM; CUVELIER; BERSET, 1995). Isto indica que a taxa em que estes extratos sequestram o radical DPPH é maior do que a taxa que o BHT sequestra dentro de 30 minutos.

Como mencionado anteriormente, não há muitos estudos sobre a extração da casca do buriti, os dados da literatura são mais focados na polpa da fruta. Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que o PLE é uma alternativa viável para a recuperação de compostos fenólicos e carotenoides da casca de buriti, mostrando em valores gerais de atividade antioxidante maior que a polpa de buriti.

5.4.3 Perfil de fenólicos dos extratos de casca de buriti obtidos no PLE

Devido ao fato do conteúdo de fenólicos ser muito mais afetado pela temperatura do que pelo teor de etanol (Figura 8c-Parte 2) o perfil fenólico foi realizado para amostras de extrato recuperadas com concentração de etanol constante (50%) e variando a temperatura (28,79 °C; 50 °C e 71,21 °C). Os ensaios selecionados para avaliação do perfil de compostos fenólicos foram: 8, 5 e 9 (Tabela 5).

Entre os 46 compostos fenólicos testados como padrão, um total de 27 foram detectados em todas as 3 amostras de extratos de casca de buriti analisadas, e os resultados são apresentados na Tabela 7. Os parâmetros para a identificação e quantificação de compostos fenólicos foram tempo de retenção, íon quantitativo e limites de identificação (LOD) e quantificação (LOQ) que são apresentados no apêndice Tabela 17. Os compostos extraídos foram predominantemente ácidos fenólicos e flavonóides, embora outras classes fenólicas também tenham sido detectadas.

Os compostos fenólicos quantificados com maior concentração nos extratos de casca de buriti a 28,79 °C foram: Isoquercetina> Ácido ferúlico> Ácido vanílico> Ácido protocatecuico> Ácido cafeico; já a 50°C foram Ácido ferúlico> Ácido protocatecuico> Isoquercetina> Ácido vanílico> Quercetina e; por fim a 71,21 °C Epicatequina> Quercetina> Ácido ferúlico> Catequina> Ácido Protocatecuico. Deve-se notar que sete compostos foram identificados pela primeira vez em associação com o buriti, neste caso a partir de extratos de casca de buriti (compostos da Tabela 7 marcados com asterisco).

Como pode ser verificado alguns compostos tiveram sua concentração reduzida com o aumento de temperatura (ácido caféico, ácido ferrúlico e ácido gálico são exemplos) enquanto outros tiveram um aumento na sua concentração (catequina, hispidulina, taxifolina e Kaempferol, são exemplos). Estas respostas podem estar associadas com a degradabilidade dos compostos com o aumento de temperatura ou a maneira como esse parâmetro influencia a capacidade de solubilidade dos compostos, de maneira que alguns fenólicos podem ter solubilidade ótima em determinada temperatura (como é o caso do ácido siríngico e ácido sinápico que tiveram maiores concentrações na temperatura intermediária).

Até onde se sabe, apenas dois estudos da literatura quantificaram compostos fenólicos de amostras de buriti, isto é, da casca (TAUCHEN *et al.*, 2016) e da polpa (BATAGLION *et al.*, 2014) (note que no trabalho realizado por Koolen *et al.* (2013) houve apenas identificação dos compostos). Esses autores encontraram ácido clorogênico, ácido protocatecuico e isoquercetina como os principais compostos. Diferentemente desses autores, o ácido clorogênico foi encontrado no presente trabalho em menor concentração e, de longe, superado pelo teor de ácido ferúlico de todas as três amostras citadas acima. Portanto, a alta atividade antioxidante detectada por esses extratos, obtidos pelo PLE, pode ser devido à presença de tais compostos (ácido ferúlico, isoquercetina e ácido protocatecuico), que têm suas atividades

antioxidantes citadas na literatura (KANKI *et al.*, 2002; KAKKAR; BAIS, 2014; CRUZ-ZÚÑIGA *et al.*, 2016).

Tabela 7 - Perfil fenólico do extrato de casca de buriti extraídos por PLE ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato).

COMPOSTOS FENÓLICOS	T (°C)	ENSAIOS		
		8	5	9
	E (%)	28.79	50.00	71.21
		50.00	50.00	50.00
Ácidos fenólicos				
1	Ácido Caféico ^{I,II,III}	158,88	112,14	79,74
2	Ácido Clorogênico ^{I,II,III}	52,77	11,60	12,42
3	Ácido Elágico*	< LOQ	< LOQ	< LOQ
4	Ácido Ferúlico ^{I,II}	1352,19	679,52	403,81
5	Ácido Gálico ^I	34,20	6,69	< LOQ
6	Ácido Protocatecuico ^{II}	367,97	403,48	302,02
7	Ácido Salicílico ^I	< LOQ	nd	nd
8	Ácido Sinápico ^I	3,21	3,71	2,00
9	Ácido Siringico ^I	101,24	120,56	116,85
10	Ácido Vanílico ^I	469,40	376,22	283,95
11	Ácido ρ -cumárico ^{I,II}	4,46	< LOQ	< LOQ
Flavonoides				
12	Apigenina ^{I,II}	2,00	1,56	2,10
13	Aromadendrina*	6,78	4,87	nd
14	Catequina ^{II,III}	14,15	137,89	355,78
15	Crisina*	< LOQ	< LOQ	< LOQ
16	Epicatequina ^{I,II}	< LOQ	14,01	559,20
17	Hispidulina*	2,74	2,63	3,49
18	Isoquercetina ^I	1560,72	382,62	462,52
19	Kaempferol ^{I,II}	nd	< LOQ	21,63
20	Miricetina ^{I,II,III}	11,53	10,46	11,27
21	Quercetina ^{I,II,III}	146,15	139,99	125,78
22	Rutina ^{I,III}	< LOQ	nd	nd
23	Taxifolina*	5,53	19,75	29,54
24	Vitexina ^{III}	1,99	< LOQ	1,14
Aldeídos Fenólicos				
25	Vanilina*	< LOQ	3,25	3,74
Cumarina				
26	Umbeliferona*	11,74	6,55	6,43
Estilbeno				
27	Resveratrol ^I	nd	< LOQ	nd

nd não detectado. < LOQ – identificado, mas não quantificado. *Reportado pela primeira vez. ^IReportado por (TAUCHEN *et al.*, 2016) em polpa ou casca de buriti; ^{II}Reportado por (BATAGLION *et al.*, 2014) em polpa de buriti; ^{III} Reportado por (KOOLEN *et al.*, 2013) em polpa de buriti.

Fonte: elaborado pelo autor.

O ácido ferulico, encontrado nas amostras de casca de buriti em concentrações acima de $400 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato, está associado com diferentes atividades biológicas, como atividade antioxidante e prooxidante (MAURYA; DEVASAGAYAM, 2010) atividade antibacteriana (IBITOYE; AJIBOYE, 2019), anti-úlceras (UMRE et al., 2018), entre outras.

O ácido protocatecuico (encontrado nos extratos de casca de buriti em concentrações $> 300 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato) apresenta alta atividade antioxidante em sistemas *in vitro* (LI et al., 2011). Além disso, apresenta outras atividades como atividade antibacteriana, antidiabético, anticâncer, anti-inflamatória, analgésica entre outras (KAKKAR; BAIS, 2014).

Em concentrações maiores do que $280 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato o ácido vanílico apresenta atividades como inibição da ação do veneno de cobra, anticâncer, anti-inflamatória e evitando a apoptose, sendo muito popular por seu odor agradável (GITZINGER et al., 2011).

A isoquercetina (encontrado em concentrações $> 380 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato) é um flavonoide com atividade antioxidante (CRUZ-ZUÑIGA et al., 2016), inibição frente ao vírus influenza A (KIM; NARAYANAN; CHANG, 2010), além de ter propriedades anti-inflamatórias, antidiabéticas, neuroprotetivas e antidepressivas (JAYACHANDRAN et al., 2019).

A catequina é um flavonoide com diferentes atividades associadas como antibacteriana, anticâncer, antifúngica, efeito anti-inflamatório, entre outras (GADKARI; BALARAMAN, 2015). Conforme Albuquerque et al., (2016), que identificou este composto em extratos de *Arbutus unedo* L., a temperatura de processo afeta o rendimento de catequina, cuja maior concentração foi obtida em $137 \pm 8^\circ\text{C}$ empregando solução etanólica e micro-ondas. Essa influência positiva da temperatura na extração da catequina também foi percebida no presente trabalho, cuja concentração variou de 14,15 até $355,78 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato com a elevação da temperatura de $28,79$ a $71,21^\circ\text{C}$. Analogamente, o efeito positivo da temperatura também foi observado para a epicatequina, que alcançou a maior concentração, de $559,20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato na temperatura de $71,21^\circ\text{C}$.

5.4.4 Condições ótimas obtidas para o PLE

A Tabela 8 mostra as condições ótimas individuais e globais das variáveis de processo em relação ao conjunto de respostas avaliadas neste estudo. A função de desejabilidade (*desirability*) foi usada para definir este propósito. A otimização de múltiplas respostas foi utilizada

considerando apenas as respostas máximas desejadas (exceto EC₅₀, onde um valor mínimo é desejado). A condição ótima global obtida através dos modelos foi de 71,21 °C e 91,58% de etanol (mistura etanol-água) e os valores previstos são apresentados na Tabela 8. O nível de desejabilidade obtido na maximização de todas as respostas foi de 0,762. Esse valor já era esperado, pois as respostas ótimas individuais têm valores de T e E diferentes da global. Por exemplo, para temperatura, enquanto o TFT e o rendimento exigem valores altos para atingir a resposta máxima, antioxidantes e carotenoides necessitam de temperaturas mais brandas para que este ótimo seja alcançado. Em um estudo similar realizado por (GILBERT-LÓPEZ *et al.*, 2017) com *Phaeodactylum tricornutum*, eles obtiveram um valor de desejabilidade de 0,699 e supuseram que esse resultado devia-se ao fato de o rendimento ter tido um valor de resposta individual totalmente diferente da condição global. Desta forma, eles retiraram essa variável e obtiveram novas condições ótimas e um valor de desejabilidade de 0,905.

Tabela 8 – Respostas ótimas individuais e global para os extratos de casca de buriti obtidos por PLE.

ÓTIMO INDIVIDUAL				
	T (°C)	E (%)	Resposta Predita	Resposta Experimental
Rendimento (Y₁)	71,21	38,12	24,91	-
Carotenoides (Y₂)	37,70	92,43	1056,65	-
Fenólicos Totais (Y₃)	71,21	92,43	184,10	-
DPPH -EC₅₀ (Y₄)	28,79	92,43	28,21	-
ABTS (Y₅)	35,15	92,43	2,71	-
ÓTIMO GLOBAL				
Rendimento (Y₁)			20,11	19,29 ± 0,45
Carotenoides (Y₂)			1010,50	978,42 ± 52,45
Fenólicos Totais (Y₃)	71,21	91,58	183,84	167,33 ± 6,38
EC₅₀ (Y₄)			39,21	42,28 ± 0,42
ABTS (Y₅)			2,69	3,44 ± 0,10

Fonte: Elaborado pelo autor.

A condição ótima global foi testada em triplicata para verificar se o modelo gerado tinha uma boa previsão. A partir dos valores obtidos na condição ótima, o único que está dentro do intervalo previsto foi o TCT. Os valores obtidos para as outras respostas não estão dentro do intervalo previsto. Os erros foram calculados pela razão da diferença entre o valor previsto e o calculado pelo previsto (expresso em porcentagem). Para rendimento esses valores variaram de 1,84 a 6,32%; 5,51-12,45% para o TFT; 6,76 a 8,90 para o DPPH e para o ABTS variaram de 24,16 a

31,60%. Os maiores erros obtidos foram para o ABTS e o conteúdo de fenólico total, isto já era esperado, uma vez que seus valores de R^2 eram baixos (0,811 e 0,350, respectivamente). Estes resultados implicam, com exceção dos valores para ABTS e TFT, em uma boa concordância entre os resultados previstos pelo modelo e aqueles obtidos experimentalmente.

Importante salientar que, para a otimização global do processo, considerando todas as respostas avaliadas (rendimento, teor de fenólicos, teor de carotenoides e atividade antioxidante), foi conferido o mesmo peso para cada uma. Por outro lado, caso a otimização busque maior rendimento em carotenoides, por exemplo, maior peso deve ser dado à esta resposta, em detrimento das demais. Com isto, a condição ótima global resultará próxima da condição ótima individual para esta resposta (teor de carotenoides).

5.4.5 Comparação entre PLE e Soxhlet

Como forma de comparação, a extração da casca de buriti foi realizada por Soxhlet utilizando etanol como solvente (Tabela 5), e os valores foram comparados com os dados do PLE após otimização (Tabela 8). Como pode ser observado, os resultados de ambas as técnicas foram muito semelhantes. No entanto, o uso de PLE oferece as vantagens de menor gasto com solventes e menor tempo de extração. Por exemplo, o método Soxhlet foi realizado em 6 horas de extração, enquanto o PLE foi realizado em apenas 40 minutos. Além disso, para o Soxhlet utilizou-se 150 mL de etanol contra 120 mL de solvente (~ 110 mL de etanol e 10 mL de água) no PLE. Então, comparado ao Soxhlet, o PLE é uma alternativa mais verde para extrair compostos fenólicos e carotenoides da casca do buriti.

5.5 RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES OBTIDAS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

A Tabela 9 apresenta o rendimento médio das extrações realizadas para a semente e para a casca de buriti com diferentes técnicas de extração (ultrassom, Soxhlet, micro-ondas e comparadas com a condição ótima global obtida no PLE) e com diferentes solventes (hexano, etanol, água e misturas etanol-água). As extrações da semente com teor de etanol de 20 e 80% no ultrassom não foram realizadas devido as outras extrações neste equipamento já indicarem um baixo rendimento para estes extratos.

Tabela 9 – Rendimento médio das extrações realizadas para a semente e casca de buriti.

Técnica de Extração	Solvente	SEMENTE	CASCA
		X ₀ (%)**	
Soxhlet	Hexano	0,46 ± 0,07 ^a	1,50 ± 0,16 ^A
	Etanol	2,46 ± 0,45 ^c	21,26 ± 1,12 ^F
	Etanol 50%	9,66 ± 0,89 ^c	25,89 ± 0,02 ^G
	Água	12,30 ± 0,32 ^e	18,04 ± 0,52 ^{DE}
Ultrassom	Hexano	0,49 ± 0,04 ^a	0,94 ± 0,02 ^A
	Etanol	0,63 ± 0,01 ^{ac}	1,99 ± 0,07 ^A
	Etanol 20%	-	14,28 ± 0,45 ^B
	Etanol 50%	10,30 ± 0,20 ^{ef}	19,73 ± 0,60 ^{EF}
	Etanol 80%	-	17,78 ± 1,05 ^{DE}
	Água	11,38 ± 0,39 ^{fg}	16,10 ± 0,50 ^{BCD}
MAE 70°C	Etanol 80%	4,94 ± 0,23 ^b	14,88 ± 1,51 ^{BC}
MAE 100°C	Etanol 80%	6,21 ± 0,28 ^{bd}	15,69 ± 0,74 ^{BCD}
MAE 130°C	Etanol 80%	7,07 ± 0,61 ^d	16,88 ± 0,39 ^{CD}
PLE*	Etanol 91,58%	5,51 ± 0,27 ^b	19,29 ± 0,45 ^{EF}

* Condição ótima global obtida no PLE (T=71,21 °C e teor de etanol na mistura etanol-água 91,58%).

** Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Como pode ser verificado, o maior rendimento para a semente de buriti foi obtido com a técnica do Soxhlet utilizando água como solvente (12,30%), seguida da técnica de ultrassom também utilizando água como solvente (11,38%), valores sem diferença significativa ao nível de 5%. Por outro lado, os menores valores de rendimento foram com hexano como solvente no Soxhlet e no Ultrassom (0,46 e 0,49, respectivamente), resultados estes sem diferença significativa.

Para a casca de buriti, o maior rendimento foi obtido utilizando a mistura etanol-água (50%) com a técnica do Soxhlet (25,89%) que foi seguida também pela mesma técnica utilizando etanol como solvente (21,26%), estes resultados diferem ao nível de 5% de significância. Os menores valores de rendimento da casca também foram obtidos utilizando hexano como solvente, de 0,94 e 1,50% para ultrassom e Soxhlet, respectivamente (valores sem diferença estatística ao nível de 5%).

A técnica em que obteve-se os maiores valores de rendimento para a semente e para a casca foi a Soxhlet. Os altos valores de rendimento encontrados nesta técnica devem-se ao refluxo e às altas temperaturas envolvidas. No Soxhlet o solvente evapora, condensa e entra em contato com a matriz por várias vezes (CHEN; URBAN, 2015). Esse ciclo faz com que o solvente sempre entre em contato com a matriz puro, isso

permite interações mais fortes entre soluto e solvente o que contribui para a maior solubilização dos componentes das matérias-primas. Além disso, o fato de a técnica do Soxhlet empregar temperaturas muito próximas a temperatura de ebulição dos solventes faz com que a tensão superficial e a viscosidade sejam reduzidas, o que promove uma maior acessibilidade dos compostos (MAZZUTTI *et al.*, 2012).

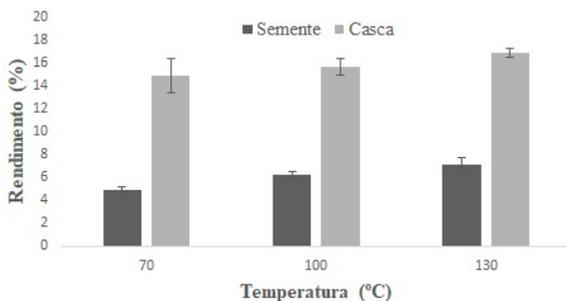
Na Tabela 9 também podemos verificar diferentes valores de rendimento para os diferentes solventes, o que nos leva a crer que as matrizes utilizadas apresentam compostos de diferentes polaridades. Solutos polares são solubilizados em compostos polares como, por exemplo, metanol, etanol e água. Solutos apolares, por sua vez, são solubilizados em solventes apolares como hexano, benzeno e tolueno (JADHAV *et al.*, 2009). Desta maneira, os baixos rendimentos alcançados com o uso de hexano como solvente podem ser atribuídos ao fato das matrizes vegetais estudadas apresentarem menores quantidades de compostos apolares, ou ricas em compostos polares.

Para a casca quando comparamos o uso do mesmo solvente nas diferentes técnicas o que percebemos é que só houveram diferenças significativas quando observamos a extração com Soxhlet contra o ultrassom utilizando Etanol e etanol 50% como solventes. Isso pode estar ligado a maneira como o Soxhlet opera como discutido anteriormente.

Na Figura 9 são apresentados os rendimentos médios obtidos com a técnica de micro-ondas para a casca e a semente do buriti e como estes rendimentos são afetados pela temperatura. Em ambos os casos, tanto para a casca como para a semente esta variável teve um efeito positivo no rendimento, apesar de em geral, não apresentarem diferença significativa ao nível de 5%. Este efeito proporcional entre T e X_0 deve-se ao fato da dessorção dos analitos em sítios ativos alvos aumentar, isso concomitantemente ao fato de que o aumento da temperatura reduzem a tensão superficial e a viscosidade dos solventes, permitindo uma melhor solubilização dos compostos devido a uma penetração mais intensa na matriz e uma melhor molhabilidade (ESKILSSON; BJORKLUND, 2000). No entanto, deve ser levado em consideração que uma maior atividade biológica poderá não ser alcançada, uma vez que alguns compostos podem ser termolábeis.

Importante ressaltar também os valores de rendimento obtidos com a técnica de micro-ondas, pois estes valores foram em geral intermediários e com um tempo inferior as demais técnicas, enquanto no micro-ondas o tempo de extração utilizado foi de 10 min., Soxhlet, ultrassom e PLE, foram realizados em 6 h, 15 min e 40 min, respectivamente.

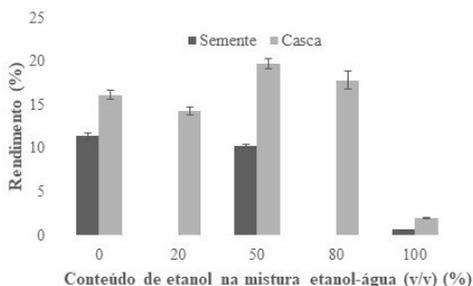
Figura 9 – Rendimentos médios obtidos com a técnica de micro-ondas para a casca e semente do buriti em diferentes temperaturas.



Fonte: elaborado pelo autor.

Na Figura 10 é apresentado o rendimento médio obtido para semente e casca de buriti utilizando a técnica de ultrassom e sua relação com o teor de etanol. Nela podemos observar que para a semente o aumento do conteúdo de etanol reduz o rendimento de extração. Por outro lado, para a casca a relação entre o conteúdo de etanol e o rendimento não é linear. Isso aliado aos valores de índice de polaridade apresentados na Tabela 10 revelam que os extratos de semente de buriti são altamente polares, pois a água foi o solvente com o qual obteve-se os maiores valores de rendimento. Para a casca os extratos apresentam polaridade de intermediária a alta.

Figura 10 – Rendimentos médios obtidos com a técnica de ultrassom para a casca e a semente do buriti em diferentes teores de etanol.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 10 – Índice de polaridade dos solventes utilizados para a extração de casca e semente de buriti.

Solvente	Índice de Polaridade ^a
Hexano	0,00
Etanol	5,20
Etanol 80 %	5,96
Etanol 50 %	7,10
Etanol 20 %	8,24
Água	9,00

^a Os índices de mistura de solventes aquosos foram calculados a partir da equação $((IA / 100) \times PA) + ((IB / 100) \times PB)$ onde: IA é o índice de polaridade do solvente A e IB é o índice de polaridade do solvente B, respectivamente, e PA e PB são os percentuais dos solventes A e B, respectivamente, na mistura (MARKOM *et al.*, 2007).

Fonte: elaborado pelo autor.

Não foram encontrados valores de rendimentos para extratos obtidos de semente e casca de buriti para fins de comparação. No entanto outros trabalhos do grupo com sementes de butiá, umbu, e maracujá (OLIVEIRA *et al.*, 2016a; CRUZ *et al.*, 2017; DIAS *et al.*, 2019) revelaram maiores valores de rendimento, se comparados com a semente de buriti encontradas neste trabalho, quando utilizaram hexano como solvente, isto sugere que para a semente de buriti provavelmente os compostos de baixa polaridade estão presentes em menor quantidade.

5.6 TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS DOS EXTRATOS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

Os valores obtidos para o Teor de fenólicos totais (TFT) dos extratos de casca e semente de buriti são apresentados na Tabela 11. Cabe ressaltar que a quantidade de extrato obtido com hexano para a semente do buriti foi muito baixo (Tabela 9) e, por isso, não foram realizadas análises de TFT e de atividade antioxidante para estes extratos.

A curva padrão de ácido gálico utilizada para correlacionar os dados do extrato é apresentado no apêndice e os resultados estão expressos em equivalente de ácido gálico por g de extrato (mg EAG/g extrato).

O maior valor de TFT obtido para a semente de buriti ocorreu utilizando a técnica de micro-ondas com etanol 80% como solvente e temperatura de 130°C (72,67 mg EAG/g de extrato), o segundo maior valor, foi obtido com ultrassom com etanol como solvente (54,69 mg EAG/g de extrato), sendo que os dois valores diferiram estatisticamente ao nível de 5%. Por outro lado, o menor valor de TFT para a semente ocorreu utilizando a técnica de ultrassom e com etanol 50%. O segundo menor valor foi obtido utilizando as condições ótimas do PLE

encontradas para a casca e não houve diferença significativa entre estes valores.

Tabela 11 – Teor de Fenólicos totais (TFT) dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com as diferentes técnicas e diferentes solventes.

Técnica de Extração	Solvente	SEMENTE		CASCA	
		TFT** (mg EAG/g de extrato)		TFT** (mg EAG/g de extrato)	
Soxhlet	Hexano	-	-	5,02 ± 0,35 ^A	-
	Etanol	18,76 ± 1,66 ^{abc}	-	162,36 ± 9,55 ^E	-
	Etanol 50%	29,33 ± 2,90 ^d	-	137,33 ± 1,73 ^C	-
	Água	24,79 ± 2,23 ^{bd}	-	159,18 ± 4,80 ^{DE}	-
Ultrassom	Hexano	-	-	8,53 ± 0,71 ^A	-
	Etanol	54,69 ± 4,32 ^e	-	86,10 ± 1,46 ^B	-
	Etanol 20%	-	-	144,25 ± 0,67 ^C	-
	Etanol 50%	12,71 ± 1,09 ^e	-	148,35 ± 2,97 ^{CD}	-
	Etanol 80%	-	-	148,62 ± 3,14 ^{CD}	-
	Água	21,07 ± 1,14 ^{ab}	-	83,39 ± 2,29 ^B	-
MAE 70°C	Etanol 80%	20,04 ± 1,06 ^{ab}	-	287,10 ± 4,90 ^F	-
MAE 100°C	Etanol 80%	30,74 ± 2,87 ^d	-	278,13 ± 2,55 ^F	-
MAE 130°C	Etanol 80%	72,67 ± 1,80 ^f	-	317,55 ± 4,78 ^G	-
PLE*	Etanol 91,58%	15,54 ± 0,94 ^{ac}	-	167,33 ± 6,38 ^E	-

* Condição ótima global obtida no PLE (T=71,21 °C e teor de etanol na mistura etanol-água 91,58%).

** Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Com relação a casca do buriti os maiores valores de TFT ocorreram com a técnica de micro-ondas, sendo o maior valor obtido a 130 °C. Por outro lado, os menores valores ocorreram utilizando o hexano como solvente nas técnicas de ultrassom e de Soxhlet, cujos resultados foram 8,53 e 5,02 mg EAG/g de extrato, respectivamente.

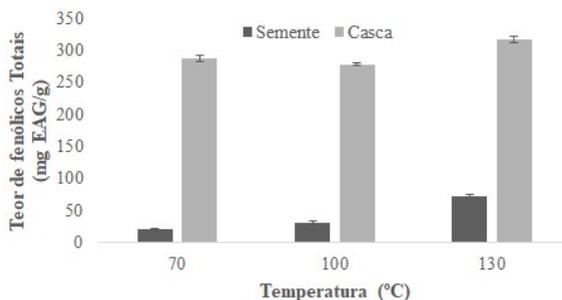
O fato do hexano ter sido o solvente cujos resultados de TFT foram os menores representa que os extratos de casca e semente de buriti apresentam poucos compostos fenólicos de baixa polaridade. Os resultados encontrados para semente e casca de buriti estão em acordo com os encontrados por Dias *et al.* (2019) e Oliveira *et al.* (2016) com semente de umbu e torta e semente de maracujá que também obtiveram baixos valores de TFT para extratos obtidos com hexano, e maiores valores de TFT quando utilizaram mistura etanol/água.

Na Figura 11 pode ser observado um efeito positivo entre a temperatura e a resposta de TFT para a semente de buriti, esta situação também foi encontrada por Pettinato *et al.* (2018) e Mazzutti *et al.* (2017), que trabalharam com “*spent coffee grounds*” e tipos de *Plantago* o *Major*

e *lanceolata*, onde o aumento da temperatura também promoveu um aumento no valor de TFT. Para a casca esse efeito não é observado, o que se percebe é que o valor a 100 °C é menor do que a 70 e 130°C, no entanto, não houve diferença significativa entre as temperaturas de 70 e 100 °C. O aumento dos fenólicos com a temperatura pode estar associado com a constante dielétrica da mistura de solvente, isso pois a água tem uma alta constante dielétrica, e a adição desta permite aumentar os índices de polaridade. Isso reflete em maior absorção da energia de micro-ondas o que implica em grande agitação molecular causando ruptura das células e uma liberação facilitada de fenólicos (MOREIRA *et al.*, 2017).

A Figura 12 apresenta a relação do TFT dos extratos de casca e de semente de buriti com o conteúdo de etanol no solvente. Nesta podemos perceber que TFT aumenta para valores intermediários de etanol na casca, enquanto que para a casca diminui. A figura só vem reforçar o fato de que diferentes matrizes apresentam vários compostos fenólicos, com diferentes polaridades, daí a importância de estudar o efeito do tipo de solventes para a sua extração.

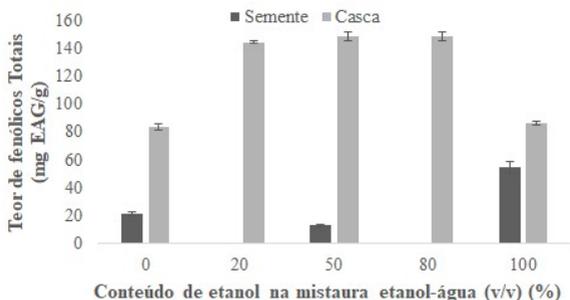
Figura 11 – Teor de Fenólicos Totais dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com micro-ondas em diferentes temperaturas.



Fonte: elaborado pelo autor.

Resultados semelhantes para o TFT para o extrato de casca de semente de buriti foram encontrados por Moreira *et al.* (2017) para resíduos de madeira de macieira onde valores intermediários de mistura etanol/água ofereceram maiores valores de TFT do que os solventes puros. Segundo os autores o maior rendimento na mistura deve-se as propriedades que a mistura proporciona. No caso dessa mistura a água age como um agente de intumescimento, permitindo que o etanol penetre mais facilmente na matriz rompendo a ligação soluto-solvente.

Figura 12 - Teor de Fenólicos Totais dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com ultrassom em diferentes teores de etanol.



Fonte: elaborado pelo autor.

Comparando os resultados obtidos de TFT da semente de buriti com os encontrados na literatura para a mesma matriz Contreras-Calderón *et al.* (2011) encontraram $67,5 \pm 4,70$ mg EAG/ 100 g de fruta fresca, já Luzia (2012) encontrou um valor de 4,59 mg EAG/g de óleo. Os resultados deste estudo, por sua vez, variaram de 12,71 a 72,67 mg EAG/g de extrato, sendo estes superiores aos encontrados por Luzia (2012), as diferenças nos valores obtidos, pode ser em decorrência da técnica de extração utilizada. A autora utilizou uma extração a frio que contém uma maior fração lipídica (apolar) e, como foi verificado neste trabalho, as extrações com maior fração apolar tiveram menores valores de TFT.

Resultados para a casca de buriti obtidos por Tauchen *et al.* (2016) foram superiores aos encontrados neste trabalho os autores encontraram um valor de 461,5 mg EAG/g de extrato, sendo que os resultados deste estudo variaram de 5,02 até 317,55 mg EAG/g de extrato. A diferença nos resultados obtidos neste trabalho com os resultados da literatura pode ser devido a metodologia utilizada de TFT, condições de extração, matrizes provenientes de diferentes localidades, condições climáticas, além de diferentes condições de solo o que acaba afetando os teores de fenólicos dos frutos.

5.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO

5.7.1 Atividade antioxidante pelo método de DPPH

Na Tabela 12 são apresentados os resultados obtidos para a capacidade antioxidante dos extratos de casca e semente de buriti

utilizando o método de DPPH, assim como é apresentado a atividade antioxidante do hidroxitolueno butilado (BHT), um antioxidante sintético altamente empregado na indústria alimentícia (RAMALHO; JORGE, 2006). Os valores estão expressos em EC_{50} (*effective concentration*) que é definido como a quantidade de antioxidante necessária (expressa em unidades de concentração) para diminuir a concentração inicial de radicais em 50% (SRIDHAR; LINTON, 2019).

Tabela 12 – Capacidade antioxidante pelo método de DPPH dos extratos de semente e casca de buriti obtidos com diferentes solventes e técnicas de extração.

Técnica de Extração	Solvente	SEMENTE	CASCA
		DPPH** EC_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
Soxhlet	Hexano	-	1557,09 \pm 32,12 ^F
	Etanol	713,54 \pm 18,39 ^E	42,36 \pm 0,22 ^{ABC}
	Etanol 50%	785,31 \pm 6,63 ^a	24,07 \pm 0,25 ^A
	Água	771,79 \pm 5,23 ^a	60,51 \pm 1,17 ^{CD}
Ultrassom	Hexano	-	577,48 \pm 2,71 ^E
	Etanol	328,50 \pm 2,67 ^d	75,04 \pm 0,05 ^D
	Etanol 20%	-	69,98 \pm 4,01 ^D
	Etanol 50%	1187,17 \pm 2,00 ⁱ	29,73 \pm 0,25 ^{AB}
	Etanol 80%	-	51,13 \pm 0,67 ^{BCD}
	Água	906,84 \pm 44,11 ^h	66,54 \pm 1,76 ^{CD}
MAE 70°C	Etanol 80%	546,12 \pm 10,43 ^f	21,72 \pm 0,42 ^A
MAE 100°C	Etanol 80%	423,26 \pm 6,52 ^e	20,19 \pm 0,37 ^A
MAE 130°C	Etanol 80%	132,34 \pm 1,07 ^b	20,75 \pm 0,26 ^A
PLE*	Etanol 91,58%	274,85 \pm 3,46 ^e	42,28 \pm 0,42 ^{ABC}
BHT	-	305,2 \pm 3,30	305,2 \pm 3,30

* Condição ótima global obtida no PLE (T=71,21 °C e teor de etanol na mistura etanol-água 91,58%).

** Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

Fonte: Elaborado pelo autor.

Importante ressaltar que, diferente das respostas anteriores, em que o maior valor era o melhor resultado, para a análise de atividade antioxidante pelo método de DPPH apresentado aqui, os menores valores é que são desejados, já que isso implica menor quantidade de extrato necessária para obter aquela atividade antioxidante. Sendo assim, os extratos da semente de buriti que tiveram a maior atividade antioxidante foram os obtidos com micro-ondas a 130 °C e com PLE na condição ótima (132,34 e 274,85 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente), sendo que houve diferença significativa entre estes extratos. Por outro lado, os menores valores foram encontrados para a técnica de ultrassom utilizando a mistura etanol-

água 50% e água, respectivamente, que também foram estatisticamente diferentes entre si.

Com relação aos extratos da casca, os maiores valores encontrados foram utilizando a técnica do micro-ondas, que não demonstraram diferença significativa entre si. Por outro lado, os menores valores foram obtidos utilizando hexano como solvente, também não diferindo estatisticamente.

Comparando os valores obtidos com o BHT o que pode-se perceber é que para a semente somente duas amostras tiveram maior atividade que o BHT, enquanto para a casca somente duas amostras foram maiores que o BHT indicando uma alta atividade antioxidante dos extratos de casca de buriti.

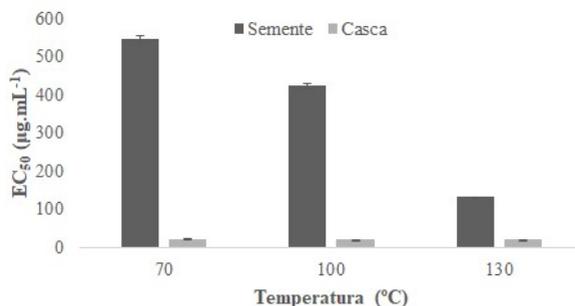
Phongpaichit *et al.* (2007) propuseram uma classificação da atividade antioxidante com relação ao valor de EC_{50} . Para este autor, valores de $EC_{50} > 250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ são considerados inativos; valores entre $100 - 250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ são fracos antioxidantes; entre $50-100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ são antioxidantes moderados; entre $10-50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ antioxidantes fortes; e menores que $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ são considerados antioxidantes muito fortes. Apesar de não ser a maneira mais correta, (devido ao fato de que existem diferentes metodologias de DPPH, algumas com soluções de DPPH mais ou menos concentradas, leituras a diferentes absorvâncias (515-523), relações amostras:DPPH diferentes, além de diferentes tempos de reação, sob condições de temperatura distintas) essa classificação será utilizada aqui neste trabalho para fins de organização com relação a atividade. Assim, segundo esta classificação, somente um extrato de semente de buriti (EAM 80% 130 °C) não é considerado inativo, apresentando-se como um fraco antioxidante. Por outro lado, para a casca de buriti duas amostras são classificadas como inativas (Soxhlet com Hexano e Ultrassom com Hexano), 5 amostras são classificadas como antioxidantes moderados e 7 amostras como antioxidantes fortes.

A Figura 13 apresenta como a capacidade antioxidante dos extratos de casca e semente do buriti variaram com a temperatura na técnica de micro-ondas. Na imagem podemos verificar um efeito positivo da temperatura na atividade antioxidante do extrato de semente, uma vez que menores valores de EC_{50} representam maiores valores de atividade antioxidante. Na casca, por sua vez, essa diferença não foi detectada e inclusive não houve diferença significativa entre estes valores.

Na Figura 14 é apresentado como o conteúdo de etanol interferiu na atividade antioxidante dos extratos de semente e casca de buriti pelo método de DPPH. A situação aqui se repetiu como no TFT discutido na seção anterior, ou seja, enquanto que para a semente o menor valor foi

encontrado para a condição intermediária (50% de etanol na mistura etanol água) para a casca a melhor condição foi encontrada na condição intermediária.

Figura 13 – Capacidade antioxidante pelo método de DPPH dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com micro-ondas em diferentes temperaturas.

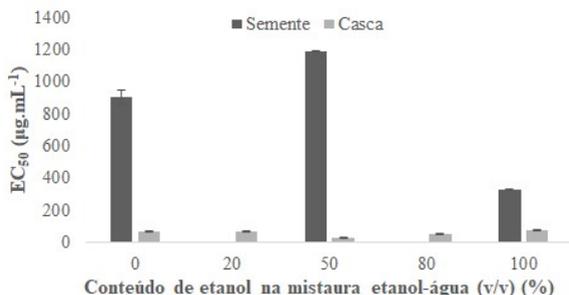


Fonte: elaborado pelo autor.

Comparando os resultados aqui obtidos com a literatura para a semente de buriti foi verificado que Contreras-Calderón *et al.* (2011) não realizaram atividade antioxidante pelo método de DPPH e que Luzia, (2012) encontrou um valor de EC₅₀ de 5,16 mg.mL⁻¹ valor este bem acima dos reportados aqui. No entanto, é importante salientar que o método de extração utilizada por essa autora foi a frio com clorofórmio, metanol e água na proporção (2:1:0,8 v/v), obtendo um extrato de baixa polaridade e como vimos na Tabela 12 extratos com baixa polaridade (obtidos com hexano) apresentaram maiores valores de EC₅₀, e portanto, menores valores de atividade antioxidante.

Para a casca de buriti Tauchen *et al.* (2016) encontrou um valor de atividade antioxidante de 1062,9 µg de ET por mg de extrato, unidade esta, diferente deste trabalho onde aqui os valores estão expressos em EC₅₀. Comparando os resultados com a casca de feijoa, neste caso, utilizando a mesma metodologia, (SANTOS *et al.*, 2019) encontrou um valor de EC₅₀ de 23 µg.mL⁻¹ quanto utilizou a técnica de Soxhlet e etanol-água como solvente (50:50 v/v) valor este muito próximo aos 24,07 µg.mL⁻¹ encontrado neste trabalho para a mesma técnica e mesmo solvente.

Figura 14 – Capacidade antioxidante pelo método de DPPH dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com ultrassom em diferentes teores de etanol.



Fonte: elaborado pelo autor.

5.7.2 Atividade antioxidante pelo método de ABTS

Na Tabela 13 podem ser verificadas as atividades antioxidantes dos extratos de casca e de semente de buriti determinadas pelo método de ABTS. Os valores são comparados com os obtidos pelo antioxidante padrão BHT e estão expressos em mmol de equivalente em Trolox (ET) por g de extrato. A curva padrão do Trolox utilizada para esta conversão está disponível na Figura 17 no apêndice. Pode-se perceber que os dois maiores valores de atividade antioxidante apresentados pelos extratos de semente de buriti foram obtidos com micro-ondas a 130 °C, e com ultrassom usando etanol como solvente. Já os menores valores ocorreram no ultrassom utilizando água e etanol 50%.

Para a casca, no entanto, o que se percebe é que os extratos com a maior atividade antioxidante foram os obtidos em micro-ondas (80% solução etanolica como solvente). Também os extratos obtidos com hexano foram os que apresentaram os menores valores de atividade de antioxidante.

Os menores valores encontrados para os extratos obtidos com hexano deve-se ao fato dos compostos fenólicos apresentarem índice de polaridade de alta a intermediária, enquanto os extratos obtidos com esse solvente são de baixa polaridade (DIAS *et al.*, 2019). Por outro lado, o fato da técnica de micro-ondas ser a técnica onde obteve-se a maior atividade antioxidante pode-se estar ligada a diferentes fatores como temperatura utilizada. No caso da temperatura, foi verificado neste trabalho que quanto maior a temperatura maior a atividade antioxidante tanto para semente como para a casca de buriti (Figura 15) extraídos por esse método de extração e foi comprovado por Liazid *et al.* (2007) que

muitos compostos fenólicos não são degradados até a temperatura de 125 °C, em 20 min nesta técnica.

Tabela 13 – Capacidade antioxidante pelo método de ABTS dos extratos de semente e casca de buriti obtidos com diferentes solventes e técnicas de extração.

Técnica de Extração	Solvente	SEMENTE	CASCA
		ABTS (mmol de ET. g ⁻¹ de extrato)	
Soxhlet	Hexano	-	0,04 ± 0,00 ^A
	Etanol	0,37 ± 0,01 ^a	3,51 ± 0,03 ^E
	Etanol 50%	0,29 ± 0,01 ^d	2,86 ± 0,06 ^D
	Água	0,37 ± 0,02 ^a	1,77 ± 0,05 ^C
Ultrassom	Hexano	-	0,05 ± 0,00 ^A
	Etanol	0,63 ± 0,03 ^c	1,04 ± 0,03 ^B
	Etanol 20%	-	1,65 ± 0,06 ^C
	Etanol 50%	0,17 ± 0,01 ^{bc}	5,03 ± 0,17 ^G
	Etanol 80%	-	3,63 ± 0,00 ^{EF}
	Água	0,14 ± 0,01 ^b	1,43 ± 0,09 ^C
MAE 70°C	Etanol 80%	0,25 ± 0,02 ^d	3,93 ± 0,10 ^F
MAE 100°C	Etanol 80%	0,37 ± 0,01 ^a	3,77 ± 0,09 ^{EF}
MAE 130°C	Etanol 80%	0,83 ± 0,01 ^f	5,30 ± 0,21 ^G
PLE*	Etanol 91,58%	0,20 ± 0,00 ^c	3,44 ± 0,10 ^E
BHT	-	7,70 ± 0,12	7,70 ± 0,12

* Condição ótima global obtida no PLE (T=71,21 °C e teor de etanol na mistura etanol-água 91,58%).

** Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa (p<0,05).

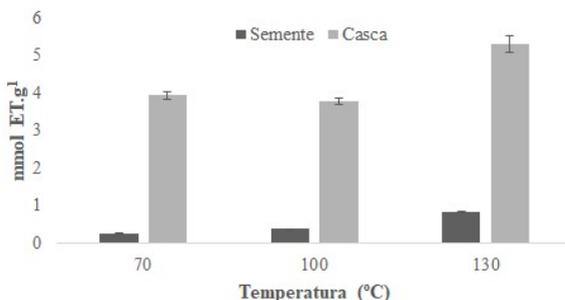
Fonte: Elaborado pelo autor.

Comparando os valores obtidos com o BHT o que se pode perceber é que nenhuma amostra obteve maior atividade antioxidante que o composto sintético, diferindo dos resultados anteriores obtidos para o DPPH, onde muitas amostras tiveram atividade superiores ao BHT. Desta maneira ou os extratos não apresentaram atividade antioxidante detectável com esta técnica, ou a maneira como o BHT reage com o ABTS é diferente de como ele reage com o DPPH. De repente os 15 minutos de diferença entre DPPH e ABTS, permitem uma maior captura de radicais pelo BHT.

Na Figura 15 estão apresentados a atividade antioxidante pelo método ABTS dos extratos de casca e semente de buriti utilizando o

micro-ondas como técnica de extração e como eles variaram em função do aumento de temperatura. Pode-se perceber que para a semente houve um efeito positivo do aumento de temperatura na atividade antioxidante pelo método de ABTS, fato este que também ocorreu para o método do DPPH.

Figura 15 - Capacidade antioxidante pelo método de ABTS dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com micro-ondas em diferentes temperaturas.



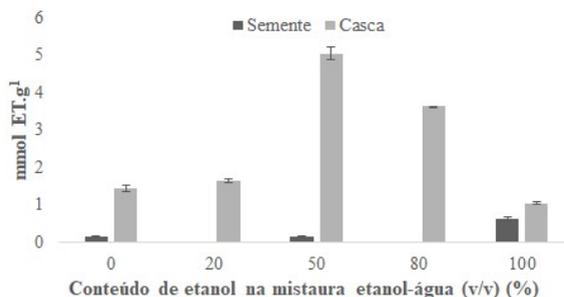
Fonte: elaborado pelo autor.

Na Figura 16 é demonstrada a relação da atividade antioxidante dos extratos de semente e casca de buriti com o aumento do conteúdo de etanol, o que pode-se perceber para a casca é que a condição intermediária com conteúdo de etanol 50% resultou na maior atividade antioxidante. Para a semente, o valor do ABTS aumentou com o conteúdo de etanol diferindo um pouco das análises anteriores de TFT e DPPH.

Contreras-calderón *et al.* (2011) encontraram um valor de 20 μmol de ET por g de fruta fresca em semente de buriti e Luzia (2012) também com semente de buriti encontrou um valor de 85,71 μmol de ET/100 g, enquanto que neste trabalho os resultados para a semente de buriti variaram de 0,14 a 0,83 mmol de ET/g de extrato. Convertendo os resultados para comparar com Luzia teríamos 83000 μmol de ET/100 g de extrato resultado este muito superior ao encontrado pela autora.

Em estudo feito por Mazzutti *et al.* (2017), que avaliaram a atividade antioxidante de extratos de *Plantago major* e *lancelota* obtidos por micro-ondas, apresentaram resultados de 0,42 a 0,99 e 0,29 a 0,81 mmol de ET/g de extrato, respectivamente, muito semelhantes ao encontrados no presente trabalho para a semente de buriti. .

Figura 16 - Capacidade antioxidante pelo método de ABTS dos extratos de casca e semente de buriti obtidos com ultrassom em diferentes teores de etanol.



Fonte: elaborado pelo autor.

Para a casca de buriti, não foi possível a comparação com a mesma matéria-prima, pois Tauchen *et al.* (2016) não analisaram a atividade antioxidante pelo método de ABTS desta matéria-prima e Pereira-Freire *et al.* (2018) obtiveram um resultado de $0,1 \pm 0,1$ expresso em EC_{50} para seu extrato de casca de buriti. Assim comparando com outras matrizes Arruda *et al.* (2019) em estudo com casca de *Araticum* encontraram valores de atividade antioxidante pelo método de ABTS variando de 467,33 a 613,47 μmol de ET/g e Andrade *et al.* (2012) em estudos com casca de café verificaram uma atividade antioxidante por ABTS variando de 38 a 381 μmol de ET/g. Estes resultados são inferiores aos obtidos neste trabalho com casca de buriti que, por sua vez, variaram de 40 a 5300 μmol de ET/g.

5.8 CORRELAÇÃO ENTRE OS FENÓLICOS TOTAIS E A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os resultados de teor de fenólicos obtidos para todos os extratos de semente e de casca de buriti, obtidos pelas diferentes técnicas e solventes de extração, foram considerados na avaliação da correlação entre TFT e atividade antioxidante. Os resultados estão apresentados na Tabela 14 onde são mostrados os coeficientes de correlação de Pearson (r).

Akoglu, (2018) fez uma revisão para coeficientes de correlação e, em geral, estes coeficientes podem ser interpretados da seguinte maneira: $|1|$ indica uma perfeita correlação entre duas variáveis, $|0,70$ a $0,90|$ muito forte, $|0,4$ a $0,60|$ forte, $|0,3|$ moderada, $|0,2|$ fraca, $|0,1|$ insignificante e $|0,0|$ não existe correlação. Estes valores podem ser positivos ou negativos. Valores positivos indicam uma relação proporcional entre as

variáveis, enquanto valores negativos indicam uma relação inversamente proporcional.

Tabela 14 - Coeficientes de correlação de Pearson (r) para o Teor de Fenólicos totais e as atividades antioxidantes pelo método de DPPH e ABTS.

	Semente (n=10)			Casca (n=14)		
	TFT	DPPH	ABTS	TFT	DPPH	ABTS
TFT	1,00	-	-	1,00	-	-
DPPH	-0,66*	1,00	-	-0,62*	1,00	-
ABTS	0,95*	-0,68*	1,00	0,83*	-0,61*	1,00

* correlações significativas a $p < 0,05$.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Tabela 14 podemos notar que o TFT teve uma correlação positiva muito forte com o ABTS para os extratos de semente e de casca de buriti. Verifica-se também uma correlação negativa forte entre TFT e DPPH, também para as amostras oriundas da semente e da casca de buriti. Esta correlação foi negativa com relação ao EC_{50} , mas positiva em relação a atividade antioxidante determinada pela técnica DPPH, pois menores valores de EC_{50} representam maior atividade. Demonstrando que o teor de fenólicos contribui significativamente para o potencial antioxidante dos extratos obtidos.

Contreras-Calderón *et al.* (2011) também verificaram a correlação entre TFT e ABTS para sementes, entre elas a semente de buriti, e obtiveram um coeficiente de correlação de 0,906. Cândido; Silva & Agostini-Costa, (2015) obtiveram valores de (r) maiores que 0,9 correlacionando fenólicos, carotenoides, DPPH, FRAP, ABTS e ORAC de extratos de polpa de buriti obtidos de duas diferentes regiões do Brasil. O presente estudo apresentou maior correlação de TFT com ABTS do que o obtido por Contreras-Calderón *et al.* (2011) o que pode ter ocorrido devido o autor ter utilizado 12 sementes diferentes para o mesmo coeficiente de correlação e cada semente tem diferentes compostos fenólicos que reagem diferentemente com esse radical. Por outro lado, os resultados foram inferiores aos obtidos por Cândido; Silva & Agostini-Costa, (2015) com a polpa de buriti o que pode ser devido ao fato da polpa de buriti apresentar compostos fenólicos que influenciam mais na atividade antioxidante que a casca e semente de buriti.

Pereira-Freire *et al.* (2018) testou diferentes classes de compostos fenólicos e sua influência na atividade antioxidante da polpa, casca e endocarpo do buriti. Os autores verificaram que para a polpa a classe de compostos que tinha maior correlação com a atividade antioxidante pelo

método de DPPH e ABTS eram os flavonoides. Já para a casca, os taninos hidrolisáveis foram a classe de compostos que tiveram a maior correlação com as atividades antioxidantes citadas anteriormente.

Mazzutti *et al.* (2017) que trabalharam com *Plantago major* e *Plantago Lanceolata* testando as mesmas relações tiveram resultados similares aos encontrados neste trabalho, onde também encontraram maior correlação entre TFT e ABTS do que DPPH e TFT.

5.9 PERFIL DE FENÓLICO DO EXTRATO DE CASCA DE BURITI OBTIDO POR ULTRASSOM

O perfil de fenólicos do extrato de casca de buriti obtido com ultrassom utilizando etanol 50% como solvente é apresentado na Tabela 15 onde podemos verificar que os 5 compostos que estão em maior concentração neste extrato são: ácido ferúlico > Isoquercetina > ácido protocatecuico > ácido vanílico > catequina. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados em PLE a 50 °C (Seção 5.4.3). Apesar dos compostos majoritários serem muito próximos aos do PLE a 50°C as atividades antioxidantes por esta técnica foram inferiores aos da técnica de ultrassom utilizando etanol 50% como solvente.

O fato dos extratos terem composição tão próxima, mas exibirem resultados de atividade antioxidantes tão diferentes pode estar relacionado a como cada extrato (matriz complexa) reage com estes radicais isso porque os compostos fenólicos podem agir sinergicamente, aditivamente ou de maneira antagônica (JACOBO-VELÁSQUEZ; CISNEROS-ZEVALLOS, 2009). Desta maneira a atividade antioxidante pode não depender da concentração fenólica, mas também de suas estruturas e da interação entre estas moléculas (DIAS *et al.*, 2019).

Para o extrato obtido por ultrassom, os compostos fenólicos presentes com concentração maior que 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato foram: ácido ferúlico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, isoquercetina, ácido siríngico e catequina, que apresentam importantes atividades biológicas como relatado no item 5.4.3. O ácido siríngico também apresenta atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, anticâncer e antidiabética (CHEEMANAPALLI *et al.*, 2018).

Comparando o resultado da Tabela 15 com a literatura, Tauchen *et al.*, (2016) encontraram teores de 0,2778; 0,1773 e 0,3905 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato para ácido ferúlico, ácido siríngico e ácido vanílico, respectivamente para extrato etanólico de casca de buriti. Bataglion *et al.*, (2014) encontraram 184,66; 2175,93 e 961,21 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato para ácido

ferúlico, ácido protocatecuico e catequina, respectivamente, para extrato metanólico de polpa de buriti.

Tabela 15 - Perfil fenólico do extrato de casca de buriti utilizando a técnica de ultrassom e etanol 50% ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de extrato).

COMPOSTOS FENÓLICOS		Ultrassom Etanol 50%
Ácidos fenólicos		
1	Ácido Caféico ^{I, II, III}	64,73 ± 2,02
2	Ácido Clorogênico ^{I, II, III}	15,86 ± 1,50
3	Ácido Elágico*	nd
4	Ácido Ferúlico ^{I, II}	594,04 ± 25,02
5	Ácido Gálico ^I	15,38 ± 4,62
6	Ácido Protocatecuico ^{II}	405,05 ± 99,98
7	Ácido Salicílico ^I	nd
8	Ácido Sinápico ^I	3,27 ± 0,32
9	Ácido Siríngico ^I	146,90 ± 11,84
10	Ácido Vanílico ^I	293,05 ± 4,60
11	Ácido p -cumárico ^{I, II}	<LOQ
Flavonoides		
12	Apigenina ^{I, II}	1,13 ± 0,10
13	Aromadendrina*	13,60 ± 0,53
14	Catequina ^{II, III}	169,97 ± 2,37
15	Crisina*	<LOQ
16	Epicatequina ^{I, II}	7,85 ± 9,19
17	Hispidulina*	1,71 ± 0,30
18	Isoquercetina ^I	448,67 ± 16,05
19	Kaempferol ^{I, II}	<LOQ
20	Miricetina ^{I, II, III}	10,71 ± 0,00
21	Quercetina ^{I, II, III}	97,56 ± 6,64
22	Rutina ^{I, III}	nd
23	Taxifolina*	14,05 ± 0,00
24	Vitexina ^{III}	1,08 ± 0,26
Aldeídos Fenólicos		
25	Vanilina*	2,57 ± 0,09
Cumarina		
26	Umbeliferona*	6,85 ± 0,13
Estilbeno		
27	Resveratrol ^I	nd

nd não detectado. <LOQ – identificado, mas não quantificado. *Reportado pela primeira vez. ^IReportado por (TAUCHEN *et al.*, 2016) em polpa ou casca de buriti; ^{II}Reportado por (BATAGLION *et al.*, 2014) em polpa de buriti; ^{III} Reportado por (KOOLEN *et al.*, 2013) em polpa de buriti.

Fonte: elaborado pelo autor.

6 CONCLUSÃO

O resíduo de casca e semente de buriti, proveniente da obtenção de produtos de buriti, como bebidas, geléias, sorvetes, sobremesas, vinho e às vezes óleo, pode ser uma boa fonte de compostos antioxidantes e alto teor de β -caroteno. Desta forma, os extratos deste resíduo podem ser obtidos e utilizados nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentar.

O uso desse resíduo promoveria menos impacto ao meio ambiente e também poderia gerar renda para os produtores de buriti que dependem do fruto para sua subsistência. A técnica de PLE utilizada em conjunto com soluções etanol:água também reduzem o impacto ambiental e sob as condições de pressão e temperatura utilizadas tiveram uma influência significativa nas respostas.

O teor de etanol juntamente com a temperatura tiveram influências positivas e negativas nos extratos obtidos com PLE, dependendo da resposta analisada. No entanto, com exceção do rendimento, todas as respostas foram maximizadas quando o maior volume de etanol foi utilizado. Por outro lado, a alta temperatura foi importante para obter rendimentos e fenólicos totais, mas influenciou negativamente na obtenção de compostos antioxidantes e carotenoides.

Assim, obteve-se uma resposta global ótima (maximizando todas as respostas) a uma temperatura de 71,21 ° C e um teor de etanol de 91,58%. Embora os valores previstos não tenham sido observados experimentalmente, houve uma aproximação relativamente boa dos resultados previstos com os resultados experimentais e os resultados obtidos com esta técnica são bastante promissores.

Os extratos de casca e semente de buriti foram obtidos por diferentes técnicas de extração, comparadas em termos de rendimento de processo e qualidade dos extratos obtidos. Os menores valores de Rendimento, TFT e atividade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS foram obtidos quando o hexano foi utilizado como solvente. Os extratos obtidos com micro-ondas foram os que apresentaram maior TFT e atividade antioxidante. Por outro lado, os maiores valores de rendimento foram obtidos com a técnica de Soxhlet.

Ao menos 27 compostos fenólicos foram identificados nas amostras testadas, dentre eles, 8 foram encontrados em maiores concentrações dependendo da amostra e são: o ácido ferúlico, ácido protocatecuico, ácido vanílico, isoquercetina, quercetina, catequina, cafeico e epicatequina. Podendo ser estes compostos os responsáveis pela alta atividade antioxidante dos extratos de casca de buriti.

Os resultados sugerem ainda que a técnica de micro-ondas é técnica muito promissora para obtenção de extratos de semente e casca de buriti, pois emprega menores tempos e volumes de solvente para obter rendimentos próximos aos encontrados pelas outras técnicas, por outro lado, contendo valores de atividade antioxidante e teor de fenólicos, em geral, maiores que as demais técnicas.

O presente estudo contribuiu para ampliar os conhecimentos referentes a casca e semente de buriti que até então são pouco aproveitadas e, principalmente os extratos da casca parecem ser muito promissores, sendo estes fonte de compostos fenólicos com alta atividade antioxidante, que por sua vez, após estudo, pode ser utilizada para fabricação de produtos na indústria alimentícia, farmacêutica e química.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a influência de outros parâmetros como solvente, tamanho de partícula, razão amostra:solvente em extratos de semente e casca de buriti obtidos com micro-ondas.
- Com a condição ótima obtida no PLE avaliar a influência de outros parâmetros, como tempo, relação sólido-líquido, tamanho de partícula, tipo do método de extração (estático ou dinâmico), entre outros, nas mesmas respostas.
- Verificação de outras atividades como atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e antitumoral dos extratos de semente e casca de buriti.
- Avaliação do potencial antioxidante *in vivo* empregando culturas de células endoteliais.
- Aplicação do extrato em uma matriz alimentar, óleo por exemplo, para verificação da sua atividade antioxidante neste sistema.
- Utilizar técnicas de extração maximizando-as para a extração de um composto específico como, por exemplo, o ácido ferulico.

REFERÊNCIAS

ADEJUMO, B. A.; INAEDE, S. G.; ADAMU, T. S. Effect of Moisture Content on the Yield and Characteristics of Oil From Moringa Oleifera Seeds. **Academic Research International**, v. 4, n. 4, p. 160–170, 2013.

AKÇAY, H.; ANAGÜN, A. S. Multi response optimization application on a manufacturing factory. **Mathematical and Computational Applications**, v. 18, n. 3, p. 531–538, 2013.

AKOGLU, H. User's guide to correlation coefficients. **Turkish Journal of Emergency Medicine**, v. 18, n. August, p. 91–93, 2018.

ALBUQUERQUE, B. R.; PRIETO, M. A.; BARREIRO, M. F.; RODRIGUES, A.; CURRAN, T. P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Catechin-based extract optimization obtained from *Arbutus unedo* L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 95, p. 404–415, 2016.

ANDRADE, K. S.; GONALVEZ, R. T.; MARASCHIN, M.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. Supercritical fluid extraction from spent coffee grounds and coffee husks: Antioxidant activity and effect of operational variables on extract composition. **Talanta**, v. 88, p. 544–552, 2012.

ANDRADE, K. S.; TRIVELLIN, G.; FERREIRA, S. R. S. Piperine-rich extracts obtained by high pressure methods. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, n. April, p. 370–377, 2017.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B. CEPPA**, v. 24, n. 2, p. 319–336, 2006.

AOAC. **Official methods of analysis**. 18. ed. Maryland: AOAC International, 2005.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 2000, p. 419–421, 2000.

ARRUDA, H. S.; SILVA, E. K.; PEREIRA, G. A.; ANGOLINI, C. F. F.; EBERLIN, M. N.; MEIRELES, M. A. A.; PASTORE, G. M. Effects of

high-intensity ultrasound process parameters on the phenolic compounds recovery from araticum peel. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 50, n. September 2018, p. 82–95, 2019.

BADARINATH, A. V.; RAO, K. M.; CHETTY, C. M. S.; RAMKANTH, S.; RAJAN, T. V. S.; GNANAPRAKASH, K. A Review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. v. 2, n. 2, p. 1276–1285, 2010.

BARBOSA, R. I.; LIMA, A. D.; JUNIOR, M. M. Biometria de frutos do buriti (*mauritia flexuosa* l.f. - arecaceae): Produção de polpa e óleo em uma área de savana em Roraima. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, v. 5, n. 10, p. 71–86, 2010.

BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A. da; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L. f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 66, p. 396–400, 2014.

BELWAL, T.; EZZAT, S. M.; RASTRELLI, L.; BHATT, I. D.; DAGLIA, M.; BALDI, A.; DEVKOTA, H. P.; ORHAN, I. E.; PATRA, J. K.; DAS, G.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; GOMEZ-GOMEZ, L.; NABAVI, S. F.; NABAVI, S. M.; ATANASOV, A. G. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, p. 82–102, 2018.

BERGMANN, J. C.; TUPINAMBA, D. D.; COSTA, O. Y. A.; ALMEIDA, J. R. M.; BARRETO, C. C.; QUIRINO, B. F. Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 411–420, 2013.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965–977, 2008.

BIANCHI, M. de L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999.

BOX, G. E. P.; WILSON, K. B. On the experimental attainment of

optimum conditions. **Journal of the Royal Statistical Society**, v. 13, p. 1–45, 1951.

BRUNNER, G. **Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes**. 1^a ed. [s.l: s.n.]

BUTNARIU, M. Methods of analysis (extraction, separation, identification and quantification) of carotenoids from Natural Products. **Journal of Ecosystem & Ecography**, v. 6, n. 2, 2016.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de experimentos usando o statistica**. Rio de Janeiro: e-papers, 2003.

CALEJA, C.; BARROS, L.; PRIETO, M. A.; FILOMENA, M.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Extraction of rosmarinic acid from *Melissa officinalis* L. by heat-, microwave- and ultrasound-assisted extraction techniques: A comparative study through response surface analysis. **Separation and Purification Technology**, v. 186, p. 297–308, 2017.

CALVO, M. M.; DADO, D.; SANTA-MARÍA, G. Influence of extraction with ethanol or ethyl acetate on the yield of lycopene, β -carotene, phytoene and phytofluene from tomato peel powder. **European Food Research and Technology**, v. 224, n. 5, p. 567–571, 2007.

CAMEL, V. Recent extraction techniques for solid matrices - supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. **The Royal Society of Chemistry**, v. 126, p. 1182–1193, 2001.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R. Comparison of the physicochemical profiles of buriti from the Brazilian Cerrado and the Amazon region. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 78–82, 2017.

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

CANTU-JUNGLES, T. M.; ALMEIDA, C. P. De; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T. R.; CORDEIRO, L. M. C. Arabinan-rich pectic

polysaccharides from buriti (*Mauritia flexuosa*): An Amazonian edible palm fruit. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 276–281, 2015.

CARABIAS-MARTÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ-GONZALO, E.; REVILLA-RUIZ, P.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1089, n. 1–2, p. 1–17, 2005.

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.

CARVALHO, J. de O.; 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.

CASTRO, M. D. L.; PRIEGO-CAPOTE, F. Soxhlet extraction: past and present panacea. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2383–2389, 2010.

CHEEMANAPALLI, S.; MOPURI, R.; GOLLA, R.; ANURADHA, C. M.; CHITTA, S. K. Syringic acid (SA) – A Review of Its Occurrence, Biosynthesis, Pharmacological and Industrial Importance. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 108, n. August, p. 547–557, 2018.

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.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011.

CHEN, L.; MA, Y.; GUO, Y.; ZHANG, C.; LIANG, Z.; ZHANG, X. Quantifying the effects of operational parameters on the counting efficiency of a condensation particle counter using response surface Design of Experiments (DoE). **Journal of Aerosol Science**, v. 106, n. December 2016, p. 11–23, 2017.

CHEN, S. Y.; URBAN, P. L. On-line monitoring of Soxhlet extraction

by chromatography and mass spectrometry to reveal temporal extract profiles. **Analytica Chimica Acta**, v. 881, p. 74–81, 2015.

CIULU, M.; QUIRANTES-PINÉ, R.; SPANO, N.; SANNA, G.; BORRÁS-LINARES, I.; SEGURA-CARRETERO, A. Evaluation of new extraction approaches to obtain phenolic compound-rich extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. **Industrial Crops & Products**, v. 108, n. June, p. 106–112, 2017.

CONG-CONG, X. U.; BING, W.; YI-QIONG, P. U.; JIAN-SHENG, T. A. O.; TONG, Z. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 15, n. 10, p. 721–731, 2017.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **FRIN**, v. 44, n. 7, p. 2047–2053, 2011.

CORDEIRO, L. M. C.; ALMEIDA, C. P. De; IACOMINI, M. Unusual linear polysaccharides: (1-5)-a-L-Arabinan, (1-3)-(1-4)-a-D-glucan and (1-4)-b-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, P. A.; BALLUS, C. A.; FILHO, J. T.; GODOY, H. T. Fatty acids profile of pulp and nuts of brazilian fruits. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 950–954, 2011.

COSTA, P. A.; BALLUS, C. A.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H. T. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, v. 43, n. 6, p. 1603–1606, 2010.

CRESPO, M. O. P.; YUSTY, M. A. L. Comparison of supercritical fluid extraction and Soxhlet extraction for the determination of PCBs in seaweed samples. **Chemosphere**, v. 59, n. 10, p. 1407–1413, 2005.

CRUZ-ZÚÑIGA, J. M.; SOTO-VALDEZ, H.; PERALTA, E.; MENDOZA-WILSON, A. M.; ROBLES-BURGUEÑO, M. R.; AURAS, R.; GÁMEZ-MEZA, N. Development of an antioxidant biomaterial by promoting the deglycosylation of rutin to isoquercetin and quercetin. **Food Chemistry**, v. 204, p. 420–426, 2016.

CRUZ, P. N.; PEREIRA, T. C. S.; GUINDANI, C.; OLIVEIRA, D. A.; ROSSI, M. J.; FERREIRA, S. R. S. Antioxidant and antibacterial potential of butia (*Butia catarinensis*) seed extracts obtained by supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 229–237, 2017.

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.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5062–5072, 2007.

DEL VALLE, J. M.; CALDERÓN, D.; NÚÑEZ, G. A. Pressure drop may negatively impact supercritical CO₂ extraction of citrus peel essential oils in an industrial-size extraction vessel. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 144, n. September 2018, p. 108–121, 2019.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, p. 214–219, 1980.

DIAS, J. L.; MAZZUTTI, S.; SOUZA, J. A. L. De; FERREIRA, S. R. S.; SOARES, L. A. L. Extraction of umbu (*Spondias tuberosa*) seed oil using CO₂, ultrasound and conventional methods: evaluations of composition profiles and antioxidant activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, n. September 2018, p. 10–18, 2019.

EGGERSDORFER, M.; WYSS, A. Carotenoids in human nutrition and health. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 652, n. June, p. 18–26, 2018.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: natural sources of antioxidants - a mini review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 811–819, 2015.

ESKILSSON, C. S.; BJORKLUND, E. Analytical-scale microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p. 227–250, 2000.

FERREIRA, S. R. S.; NIKOLOV, Z. L.; DORAISWAMY, L. K.; MEIRELES, M. A. A.; PETENATE, A. J. Supercritical fluid extraction of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 14, p. 235–245, 1999.

FITRIANTO, A.; MIDI, H. Multi-Response Optimization via Desirability Function for the Black Liquor DATA. **Journal of Science and Technology**, n. II, p. 91–102, 2011.

FORNASARI, C. H.; SECCO, D.; SANTOS, R. F.; DA SILVA, T. R. B.; GALANT LENZ, N. B.; TOKURA, L. K.; LENZ, M. L.; DE SOUZA, S. N. M.; JUNIOR, L. A. Z.; GURGACZ, F. Efficiency of the use of solvents in vegetable oil extraction at oleaginous crops. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 80, n. May, p. 121–124, 2017.

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.

GADKARI, P. V.; BALARAMAN, M. Catechins: Sources, extraction and encapsulation: A review. **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, n. December 2013, p. 122–138, 2015.

GALEANO, A.; URREGO, L. E.; SÁNCHEZ, M.; PEÑUELA, M. C. Environmental drivers for regeneration of *Mauritia flexuosa* L.f. in colombian amazonian swamp forest. **Aquatic Botany**, v. 123, p. 47–53, 2015.

GILBERT-LÓPEZ, B.; BARRANCO, A.; HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Development of new green processes for the recovery of bioactives from *Phaeodactylum tricornutum*. **Food Research International**, v. 99, p. 1056–1065, 2017.

GITZINGER, M.; KEMMER, C.; FLURI, D. A.; EL-BABA, M. D.; WEBER, W.; FUSSENEGGER, M. The food additive vanillic acid controls transgene expression in mammalian cells and mice. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 5, p. e37–e37, 2011.

GOETHALS, P. L.; CHO, B. R. Extending the desirability function to account for variability measures in univariate and multivariate response experiments. **Computers and Industrial Engineering**, v. 62, n. 2, p. 457–

468, 2012.

GOMIDE, R. **Operações com sistemas sólidos granulares**. São Paulo- Brasil: Câmara Brasileira do Livro, 1983.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 18, n. 1, p. 125–126, 1995.

HELENO, S. A.; DIZ, P.; PRIETO, M. A.; BARROS, L.; RODRIGUES, A.; BARREIRO, M. F.; FERREIRA, I. C. F. R. Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus* L. by response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction. **Food Chemistry**, v. 197, p. 1054–1063, 2016.

HERRERO, M.; CASTRO-PUYANA, M.; MENDIOLA, J. A.; IBÁÑEZ, E. Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 67–83, 2013.

HERRERO, M.; SÁNCHEZ-CAMARGO, A. del P.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 26–38, 2015.

HOSSAIN, M. B.; BARRY-RYAN, C.; MARTIN-DIANA, A. B.; BRUNTON, N. P. Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 339–346, 2011.

IBITOYE, O. B.; AJIBOYE, T. O. Ferulic acid potentiates the antibacterial activity of quinolone-based antibiotics against *Acinetobacter baumannii*. **Microbial Pathogenesis**, v. 126, n. August 2018, p. 393–398, 2019.

JACOBO-VELÁSQUEZ, D. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Correlations of antioxidant activity against phenolic content revisited: A new approach in data analysis for food and medicinal plants. **The Society for Food Science & Technology**, v. 74, n. 9, p. 107–113, 2009.

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.

JAYACHANDRAN, M.; WU, Z.; GANESAN, K.; KHALID, S.; CHUNG, S. M.; XU, B. Isoquercetin upregulates antioxidant genes, suppresses inflammatory cytokines and regulates AMPK pathway in streptozotocin-induced diabetic rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 303, n. February, p. 62–69, 2019.

JUNIOR, O. P.; CAZETTA, A. L.; SOUZA, I. P. A. F.; BEDIN, K. C.; MARTINS, A. C.; 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, p. 4401–4407, 2014.

KAKKAR, S.; BAIS, S. A review on protocatechuic acid and its pharmacological potential. **ISRN Pharmacology**, v. 2014, p. 1–9, 2014.

KALIL, S. J.; MAUGERI, F.; RODRIGUES, M. I. Response surface analysis and simulation as a tool for bioprocess design and optimization. v. 35, p. 539–550, 2000.

KANKI, J.; AKSENOVA, M.; STOYANOVA, A.; BUTTERFIELD, D. A. Ferulic Acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: structure-activity studies. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, p. 273–281, 2002.

KARADAG, A.; OZCELİK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. September 2008, p. 41–60, 2009.

KARIMIFARD, S.; REZA, M.; MOGHADDAM, A. Application of response surface methodology in physicochemical removal of dyes from wastewater: A critical review. **Science of the Total Environment**, v. 640–641, p. 772–797, 2018.

KIM, A. Y.; KIM, W.; KIM, D. O.; KIM, H. Y.; KIM, B. Y.; BAIK, M. Y.; LEE, H. Effects of moisture content and puffing pressure on extraction yield and antioxidant activity of puffed 21-year-old *Platycodon grandiflorum*

roots. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. 1293–1299, 2015.

KIM, Y.; NARAYANAN, S.; CHANG, K. O. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. **Antiviral Research**, v. 88, n. 2, p. 227–235, 2010.

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

KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A. da; SILVA, V. S. V. da; PAZ, W. H. P.; BATAGLION, G. A. Buriti fruit - *Mauritia flexuosa* . In: RODRIGUES, S.; SILVA, E. DE O.; BRITO, E. S. DE (Ed.). **Exotic Fruits**. Londres: Academic Press, 2018. p. 61–67.

KOŞAR, M.; DORMAN, H. J. D.; HILTUNEN, R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, p. 525–533, 2005.

KUHNEN, S.; LEMOS, P. M. M.; CAMPESTRINI, L. H.; OGLIARI, J. B.; DIAS, P. F.; MARASCHIN, M. Antiangiogenic properties of carotenoids: A potential role of maize as functional food. **Journal of Functional Foods**, v. 1, n. 3, p. 284–290, 2009.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 726–732, 2005.

LI, X.; WANG, X.; CHEN, D.; CHEN, S. Antioxidant activity and mechanism of protocatechuic acid *in vitro* . **Functional Foods in Health and Disease**, v. 1, n. 5, p. 199–213, 2011.

LIAZID, A.; PALMA, M.; BRIGUI, J.; BARROSO, C. G. Investigation on phenolic compounds stability during microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1140, n. 1–2, p. 29–34, 2007.

LIMA, R. P.; LUZ, P. T. S.; BRAGA, M.; BATISTA, P. R. dos S.; COSTA, C. E. F. da; ZAMIAN, J. R.; NASCIMENTOS, L. A. S. do; FILHO,

G. N. da R. Murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) butter and oils of buriti (*Mauritia flexuosa* Mart.) and pracaxi (*Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze) can be used for biodiesel production: Physico-chemical properties and thermal and kineti. **Industrial Crops & Products**, v. 97, p. 536–544, 2017.

LUZIA, D. M. M. **Propriedades funcionais de óleos extraídos de sementes de frutos do cerrado brasileiro**. 2012. Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2012.

MAJDI, H.; ESFAHANI, J. A.; MOHEBBI, M. Optimization of convective drying by response surface methodology. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 156, n. October 2018, p. 574–584, 2019.

MARIĆ, M.; GRASSINO, A. N.; ZHU, Z.; BARBA, F. J.; BRNČIĆ, M.; RIMAC BRNČIĆ, S. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. **Trends in Food Science & Technology**, v. 76, n. January, p. 28–37, 2018.

MARKOM, M.; HASAN, M.; RAMLI, W.; DAUD, W.; SINGH, H.; JAHIM, J. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. **Separation and Purification Technology**, v. 52, p. 487–496, 2007.

MATOS, F. S.; NUNES, Y. R. F.; SILVA, M. A. P.; OLIVEIRA, I. S. Variação biométrica de diásporos de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.-Arecaceae) em veredas em diferentes estágios de conservação. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 4, p. 833–842, 2014.

MAURYA, D. K.; DEVASAGAYAM, T. P. A. Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 12, p. 3369–3373, 2010.

MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S.; HERRERO, M.; IBAÑEZ, E. Intensified aqueous-based processes to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 64–71, 2017.

MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S.; RIEHL, C. A. S.; SMANIA, A.; SMANIA, F. A.; MARTÍNEZ, J. Supercritical fluid extraction of *Agaricus brasiliensis*: Antioxidant and antimicrobial activities. **The Journal**

of Supercritical Fluids, v. 70, p. 48–56, 2012.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research**, v. 15, p. 127–130, 2001.

MEZZOMO, N.; FERREIRA, S. R. S. Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology : A review. **Journal of Chemistry**, v. 2016, 2016.

MEZZOMO, N.; MARTÍNEZ, J.; FERREIRA, S. R. S. The Journal of Supercritical Fluids Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) almond oil : Kinetics , mathematical modeling and scale-up. v. 51, p. 10–16, 2009.

MILANEZ, J. T.; NEVES, L. C.; COLOMBO, R. C.; SHAHAB, M.; ROBERTO, S. R. Bioactive compounds and antioxidant activity of buriti fruits, during the postharvest, harvested at different ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 227, n. August 2017, p. 10–21, 2018.

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

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 7th ed. [s.l: s.n.]

MOREIRA, M. M.; BARROSO, M. . F.; BOEYKENS, A.; WITHOUCK, H.; MORAIS, S.; DELERUE-MATOS, C. Valorization of aple tree wood residues by polyphenols extraction: Comparison between conventional and microwave-assisted extraction. **Industrial Crops & Products**, v. 104, n. February, p. 210–220, 2017.

MOTTAHEDIN, P.; ASL, A. H.; LOTFOLLAHI, M. N. Experimental and modeling investigation on the solubility of β -carotene in pure and ethanol-modified subcritical water. **Journal of Molecular Liquids**, v. 237, p. 257–265, 2017.

MOURA, M. J.; FIGUEIREDO, M. M. Aplicação das técnicas de

picnometria de gás e de porosimetria de mercúrio à caracterização da madeira de *E. globulus*. **Silva Lusitana**, v. 10, n. 2, p. 207–216, 2002.

MUSTAFA, A.; TREVINO, L. M.; TURNER, C. Pressurized hot ethanol extraction of carotenoids from carrot by-products. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 1809–1818, 2012.

MUSTAFA, A.; TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 703, n. 1, p. 8–18, 2011.

NABET, N.; GILBERT-LÓPEZ, B.; MADANI, K.; HERRERO, M.; IBÁÑEZ, E.; MENDIOLA, J. A. Optimization of microwave-assisted extraction recovery of bioactive compounds from *Origanum glandulosum* and *Thymus fontanesii*. **Industrial Crops & Products**, v. 129, n. November 2018, p. 395–404, 2019.

NERI-NUMA, I. A.; SANCHO, R. A. S.; PEREIRA, A. P. A.; PASTORE, G. M. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, n. October 2017, p. 345–360, 2018.

OLIVEIRA, D. A.; ANGONESE, M.; GOMES, C.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55–62, 2016a.

OLIVEIRA, D. A.; ANGONESE, M.; GOMES, C.; FERREIRA, S. R. S. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp .) by-products : Sustainable recovery and biological activities. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55–62, 2016b.

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

PANJA, P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. **Current Opinion in Food Science**, v. 17, p. 1–10, 2017.

PEREIRA-FREIRE, J. A.; OLIVEIRA, G. L. D. S.; LIMA, L. K. F.; RAMOS, C. L. S.; ARCANJO-MEDEIROS, S. R.; LIMA, A. C. S. De; TEIXEIRA, S. A.; OLIVEIRA, G. A. L. De; NUNES, N. M. F.; AMORIM,

V. R.; LOPES, L. D. S.; ROLIM, L. A.; COSTA-JÚNIOR, J. S. Da; FERREIRA, P. M. P. In vitro and ex vivo chemopreventive action of *Mauritia flexuosa* products. **Hindawi**, v. 2018, 2018.

PÉREZ, E. E.; BAÜMLER, E. R.; CRAPISTE, G. H.; CARELLI, A. A. Effect of sunflower collets moisture on extraction yield and oil quality. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 1800234, p. 1–7, 2018.

PETTINATO, M.; ALBERTO, A.; FRANCESCO, P.; PALOMBO, D.; PEREGO, P. Eco-sustainable recovery of antioxidants from spent coffee grounds by microwave-assisted extraction: Process optimization, kinetic modeling and biological validation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 114, p. 31–42, 2018.

PHONGPAICHIT, S.; NIKOM, J.; RUNGJINDAMAI, N.; SAKAYAROJ, J. Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. 2007.

PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 84–99, 2013.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755–760, 2006.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

RENARD, C. M. G. C. Extraction of bioactives from fruit and vegetables: State of the art and perspectives. **LWT**, v. 93, n. August 2017, p. 390–395, 2018.

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, n. July 2018, p. 53–60, 2019.

RFJ, S.; PIGHINELLI, L. Application of chitosan and buriti oil (*Mauritia Flexuosa* L.) in skin wound healing. **Journal of Applied**

Biotechnology & Bioengineering, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2017.

RICHTER, B. E.; JONES, B. A.; EZZELL, J. L.; PORTER, N. L.; AVDALOVIC, N.; POHL, C. Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 6, p. 1033–1039, 1996.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Bioactive carotenes and xanthophylls in plant foods**. [s.l.] Elsevier, 2019. v. 3

RULL, V.; MONTOYA, E. *Mauritia flexuosa* palm swamp communities: natural or human-made? A palynological study of the Gran Sabana region (northern South America) within a neotropical context. **Quaternary Science Reviews**, v. 99, p. 17–33, 2014.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. **Food Chemistry**, v. 240, n. June 2017, p. 90–103, 2018.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research Internationak**, n. August, p. 735–750, 2015.

SAMPAIO, M. B. **Boas praticas de manejo para o extrativismo sustentável do buriti**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2011.

SAMPAIO, M. B.; CARRAZZA, L. R. **Manual tecnológico de aproveitamento integral do fruto e da folha do buriti (*mauritia flexuosa*)**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2012.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A. del P.; IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A.; HERRERO, M. Bioactives Obtained From Plants, Seaweeds, Microalgae and Food By-Products Using Pressurized Liquid Extraction and Supercritical Fluid Extraction. **Comprehensive Analytical Chemistry**, v. 76, p. 27–51, 2017.

SANTOS, P. H.; RIBEIRO, D. H. B.; MICKE, G. A.; VITALI, L.; HENSE, H. Extraction of bioactive compounds from feijoa (*Acca sellowiana* (O . Berg) Burret) peel by low and high-pressure techniques. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, n. December 2018, p. 219–227, 2019.

SCHIASSI, M. C. E. V.; SOUZA, V. R. De; LAGO, A. M. T.; CAMPOS, L. G.; QUEIROZ, F. Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, n. October 2017, p. 305–311, 2018.

SCHULZ, M.; CAMPELO, S.; VALDEMIRO, L.; KATIA, S.; SERAGLIO, T.; SIMON, I.; STREMEL, M.; NEHRING, P.; SANTOS, J.; GOIS, D.; SILVA, T.; ALMEIDA, D.; VITALI, L.; ALFONSO, D.; AMADEU, G.; LAZARO, D.; BORGES, G.; FETT, R. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, v. 77, p. 125–131, 2015.

SETYANINGSIH, W.; SAPUTRO, I. E.; PALMA, M.; BARROSO, C. G. Optimisation and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains. **Food Chemistry**, v. 169, p. 141–149, 2015.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820–897, 2015.

SOMMER, A. Vitamin A deficiency and clinical disease: An historical overview. **The Journal of Nutrition**, n. April, p. 1835–1839, 2008.

SRIDHAR, K.; LINTON, A. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. **Food Chemistry**, v. 275, n. May 2018, p. 41–49, 2019.

SUCUPIRA, N. R.; DA SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; DA COSTA, J. N. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, p. 263–269, 2012.

SYAHARIZA, Z. A.; TORKAMANI, A. E.; NORZIAH, H. M.; MAHMOOD, W. A. K.; JULIANO, P. Optimisation of pressurised liquid extraction for antioxidative polyphenolic compound from *Momordica charantia* using response surface methodology. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 2, p. 480–493, 2017.

TARLEY, R. C.; SILVEIRA, G.; SANTOS, W. N. L.; MATOS, G. D.; DA SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, n. 1, p. 58–67, 2009.

TAUCHEN, J.; BORTL, L.; HUML, L.; MIKSATKOVA, P.; DOSKOCIL, I.; MARSIK, P.; VILLEGAS, P. P. P.; FLORES, Y. B.; DAMME, P. Van; LOJKA, B.; HAVLIK, J.; LAPCIK, O.; KOKOSKA, L. Phenolic composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants from the Peruvian Amazon. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 6, p. 728–737, 2016.

TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100–109, 2015.

TRIPODO, G.; IBÁÑEZ, E.; CIFUENTES, A.; GILBERT-LÓPEZ, B.; FANALI, C. Optimization of pressurized liquid extraction by response surface methodology of Goji berry (*Lycium barbarum* L.) phenolic bioactive compounds. **Electrophoresis**, p. 1–10, 2018.

UMRE, R.; GANESGPURKAR, A.; GANESHPURKAR, A.; PANDEY, S.; PANDEY, V.; SHRIVASTAVA, A.; DUBEY, N. In vitro, in vivo and in silico antiulcer activity of ferulic acid. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 248–253, 2018.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. da S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 90, n. 1, p. 763–778, 2018.

VAZQUEZ-ROIG, P.; PICÓ, Y. Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 55–64, 2015.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 97, p. 159–178, 2017.

VIRAPONGSE, A.; ENDRESS, B. A.; GILMORE, M. P.; HORN, C.; ROMULO, C. Ecology, livelihoods, and management of the *Mauritia*

flexuosa palm in South America. **Global Ecology and Conservation**, v. 10, p. 70–92, 2017.

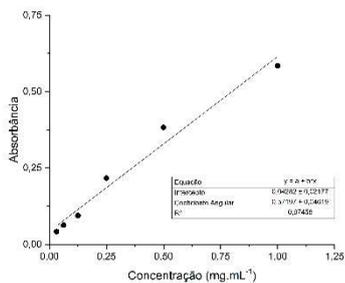
VIROT, M.; TOMAO, V.; COLNAGUI, G.; VISINONI, F.; CHEMAT, F. New microwave-integrated Soxhlet extraction. An advantageous tool for the extraction of lipids from food products. **Journal of Chromatography A**, v. 1174, n. 1–2, p. 138–144, 2007.

WILLIAM, W. B.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, p. 25–30, 1995.

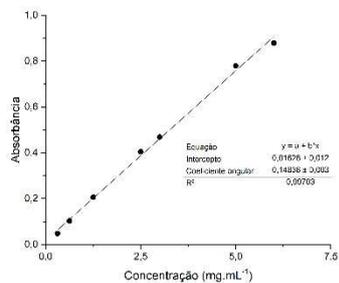
ZHANG, Q. W.; LIN, L. G.; YE, W. C. Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. **Chinese Medicine**, v. 13, n. 1, p. 1–26, 2018.

APÊNDICE

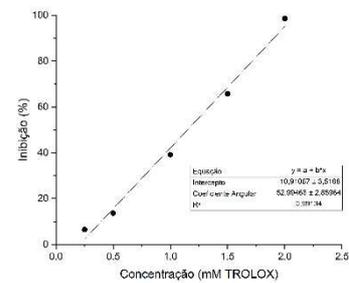
Figura 17 – Curva analítica dos padrões. a) Curva padrão do ácido gálico; b) Curva padrão do beta-caroteno; c) Curva padrão do Trolox.



a)



b)



c)

Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 16 - Dados da cinética de extração de casca de buriti utilizando o PLE.

Tempo (min.)	Massa de extrato (mg)	Massa de extrato acumulada (mg)	Rendimento (%)	Rendimento acumulado (%)	Volume de solvente* (mL)	Concentração** (mg.mL⁻¹)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	139.00	139.00	4.62	4.62	9.00	15.44
6	67.20	206.20	2.24	6.86	9.00	7.47
9	41.40	247.60	1.38	8.24	9.00	4.60
12	29.90	277.50	0.99	9.23	9.00	3.32
15	23.70	301.20	0.79	10.02	9.00	2.63
18	18.90	320.10	0.63	10.65	9.00	2.10
21	14.60	334.70	0.49	11.13	9.00	1.62
24	13.20	347.90	0.44	11.57	9.00	1.47
27	11.60	359.50	0.39	11.96	9.00	1.29
30	9.80	369.30	0.33	12.29	9.00	1.09
35	15.40	384.70	0.51	12.80	15.00	1.03
40	13.00	397.70	0.43	13.23	15.00	0.87
45	12.00	409.70	0.40	13.63	15.00	0.80
50	9.60	419.30	0.32	13.95	15.00	0.64
55	9.60	428.90	0.32	14.27	15.00	0.64
60	8.80	437.70	0.29	14.56	15.00	0.59
65	7.40	445.10	0.25	14.81	15.00	0.49
70	6.70	451.80	0.22	15.03	15.00	0.45
75	5.90	457.70	0.20	15.23	15.00	0.39
80	5.30	463.00	0.18	15.40	15.00	0.35
85	4.40	467.40	0.15	15.55	15.00	0.29
90	4.40	471.80	0.15	15.70	15.00	0.29

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 17 – Parâmetros para identificação e quantificação dos compostos fenólicos no LC-ESI-MS/MS.

	Compostos fenólicos	[M-H] (<i>m/z</i>)	Íon Quantitativo (<i>m/z</i>)	Tempo de retenção (min)	LOD* (mg L ⁻¹)	LOQ* (mg L ⁻¹)
1	3,4 dihydroxybenzoic acid	152,921	109	6,3429	0,0216	0,0654
2	4- aminobenzoic acid	135,995	91,9	10,7456	1,8667	5,6566
3	4-hydroxymethylbenzoic acid	150,967	107	8,4493	0,0796	0,2411
4	p-Anisic acid	150,832	105,2	11,34	0,1966	0,5957
5	p-Coumaric acid	162,926	119,1	10,2837	0,0242	0,0734
6	Apeginin	268,794	114,8	12,62	0,0032	0,0097
7	Aromadendrin	286,824	123,9	11,29	0,0182	0,0552
8	Caffeic acid	178,927	135	9,2349	0,0385	0,1166
9	Carnosol	329,008	284	14,32	0,0094	0,0285
10	Catechin	288,853	120,3	8,82	0,0273	0,0828
11	Cinnamic acid	146,886	100,7	11,8	4,3421	13,1579
12	Chlorogenic acid	353,155	191	9,047	0,0130	0,0394
13	Chrysin	252,87	62,2	13,88	0,0078	0,0236
14	Coniferaldehyde	177,015	162	11,18	0,0089	0,0271
15	Ellagic acid	300,959	145	11,7219	0,5280	1,6000
16	Epicatequin	288,954	123	9,15	0,0275	0,0835
17	Eriodictyol	286,823	132,1	11,85	0,0025	0,0075
18	Ferulic acid	192,957	134	10,6612	0,0119	0,0362
19	Fustin	286,835	105,6	10,32	0,0151	0,0457
20	Galangin	268,811	59,9	13,44	0,0187	0,0566
21	Galic acid	168,908	125	3,6016	0,0428	0,1296
22	Hispidulin	298,957	284	12,6341	0,0028	0,0083
23	Isoquercetin	463,155	300	10,8104	1,7023	5,1586
24	Isorientin	446,86	326,9	10,1182	0,1552	0,4703
25	Kaempferol	284,995	65	12,2327	0,0903	0,2735
26	Mandelic acid	150,875	106,8	7,86	1,1034	3,3437
27	Methoxyphenylacetic acid	164,976	121,1	10,2249	0,4135	1,2530
28	Myricetin	316,995	151	11,1622	0,0633	0,1917

29	Naringenin	270,985	151	12,2637	0,0036	0,0108
30	Naringin	579,91	150	11,18	1,7103	5,1829
31	Pinocembrin	254,954	151	13,59	0,0193	0,0586
32	Quercetin	300,968	151	11,6893	0,1498	0,4541
33	Resveratrol	226,875	181,6	11,14	0,0499	0,1513
34	Rosmarinic acid	358,995	159,8	10,83	0,0123	0,0373
35	Rutin	609,242	301	10,6121	0,0113	0,0343
36	Salicylic acid	136,942	93	10,7456	0,0135	0,0409
37	Scopoletin	190,972	176	10,9342	0,0059	0,0178
38	Sinapaldehyde	180,94	166	10,6684	0,0588	0,1781
39	Sinapic acid	223,011	164	10,7456	0,0121	0,0367
40	Syringaldehyde	207,04	177	11,3399	0,0183	0,0553
41	Syringic acid	196,939	121,1	9,8828	0,0150	0,0455
42	Taxifolin	303,019	125,1	10,5516	0,0227	0,0689
43	Umbelliferone	160,941	133,1	10,7938	0,0037	0,0112
44	Vanillic acid	166,923	152	9,8828	0,0440	0,1335
45	Vanillin	150,958	136	10,2838	0,0157	0,0477
46	Vitexin	430,882	310,9	10,5029	0,0059	0,0179

*LOD = limit of identification; LOQ = limit of quantification

Fonte: elaborado pelo autor.

ANEXO A – Tabela de condições climáticas do local de coleta das amostras

Tabela 18 - Condições climáticas do mês referente a coleta de amostras*.

Altitude (m)		124	
Mês de Coleta		janeiro	
	mínimo	média	máximo
Temperatura (°C)	21,00	25,20	33,30
Precipitação (mm)	0,00	0,42	37,20
Umidade (%)	47,00	86,73	97,00
Radiação (KJ/m²)	-3,54	667,11	7865,00

*Dados obtidos no INMET para o mês de janeiro, na estação espacial mais próxima da coleta das amostras.

Fonte: INMET, (2018)