

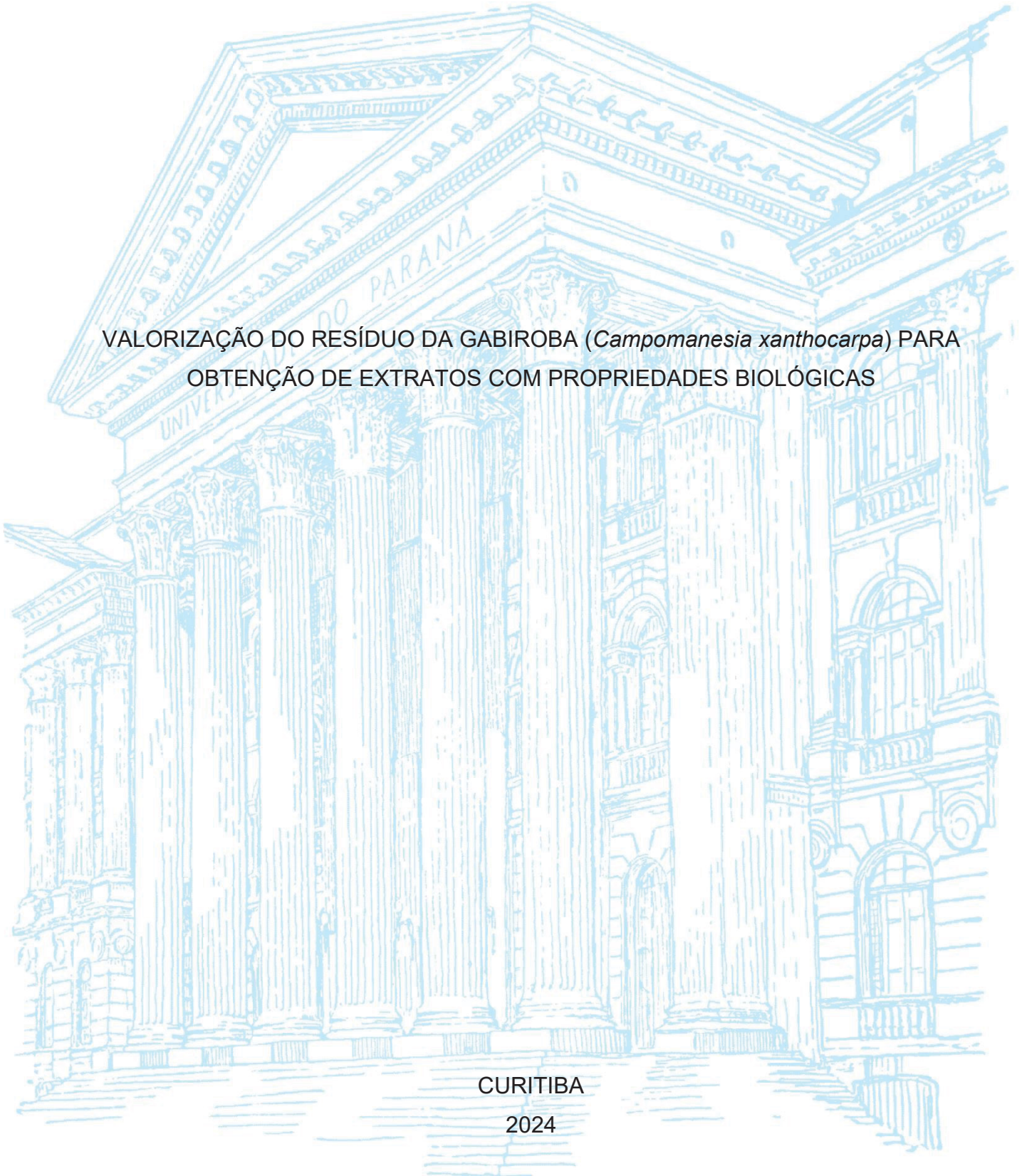
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINA LILIBETH CARVALHO DE PINHO

VALORIZAÇÃO DO RESÍDUO DA GABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*) PARA  
OBTENÇÃO DE EXTRATOS COM PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

CURITIBA

2024



CAROLINA LILIBETH CARVALHO DE PINHO

VALORIZAÇÃO DO RESÍDUO DA GABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*) PARA  
OBTENÇÃO DE EXTRATOS COM PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Engenharia de Alimentos, no curso de Pós- Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luciana Igarashi Mafra  
Coorientadora: Dr<sup>ª</sup>. Cristiane Vieira Helm

CURITIBA

2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Pinho, Carolina Lilibeth Carvalho de  
Valorização do resíduo da Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) para  
obtenção de extratos com propriedades biológicas / Carolina Lilibeth  
Carvalho de Pinho. – Curitiba, 2024.  
1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia,  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Luciana Igarashi Mafra  
Coorientador: Cristiane Vieira Helm

1. Sustentabilidade. 2. Compostos bioativos. 3. Óleos vegetais. I.  
Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia de Alimentos. III. Mafra, Luciana Igarashi. IV Helm, Cristiane  
Vieira. V. Título.

Bibliotecário: Leticia Priscila Azevedo de Sousa CRB-9/2029

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **CAROLINA LILIBETH CARVALHO DE PINHO** intitulada: **Valorização do resíduo da gabioba (*Campomanesia xanthocarpa*) para obtenção de extratos com propriedades biológicas.**, sob orientação da Profa. Dra. LUCIANA IGARASHI MAFRA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 08 de Março de 2024.

Assinatura Eletrônica

12/03/2024 12:17:35.0

LUCIANA IGARASHI MAFRA

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

13/03/2024 16:19:47.0

SUELEN ÁVILA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ -  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO)

Assinatura Eletrônica

03/04/2024 11:31:24.0

GISELLE MARIA MACIEL

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO  
PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

22/03/2024 14:00:12.0

ALINE THEODORO TOCI

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DA INTEGRAÇÃO  
LATINO AMERICANA)

Assinatura Eletrônica

20/03/2024 16:03:09.0

PAULA BECKER PERTUZATTI

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO)

*A minha amada mãe, Olga, sempre presente  
no meu coração e nos meus pensamentos:  
essa e todas as conquistas da minha vida!*

## AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as bênçãos concedidas em minha vida, pela esperança renovada todos os dias em meu coração, pelo amparo nos momentos de angústia, por sempre ter me dado forças e saúde para superar todas as dificuldades e seguir em frente.

Ao meu filho, pelo qual espero ansiosa a chegada, pela coragem e o impulso que eu precisava para alcançar mais essa vitória.

Ao meu companheiro, Thiago, em quem encontrei o amor que eu precisava durante minha jornada na pós-graduação, pelo incentivo, por acreditar em mim e pelo carinho e cuidado com nossa família.

À minha mãe, Olga (*in memoriam*), que nunca mediu esforços para que suas filhas conquistassem os objetivos almejados, por todo amor, apoio e dedicação. Sem a senhora eu não teria chegado aqui. Entre a defesa desse trabalho e sua publicação, a senhora desencarnou. Embora a tristeza esteja ainda presente, tenho um coração grato pelo tempo que convivemos. Me sinto honrada e feliz por ser sua filha. Sua essência está marcada em mim e será lembrada por nós todos os dias.

À minha irmã, Lili, por ser meu exemplo, por se fazer presente em minha vida, por ser exatamente quem é. Você é minha pessoa favorita.

Ao meu pai Rejande (*in memoriam*), subjetividade marcada na minha história e tão presente em meus dias, pela minha vida e essência.

À minha amada e querida amiga Renata, uma conhecida da graduação no começo e uma irmã no final. A sua parceria foi fundamental para que eu alcançasse esse objetivo. Você foi colo e o incentivo que eu precisava em diversas ocasiões de desânimo. Me deu a mão quando mais precisei, deixando o caminho mais leve e agradável. Me proporcionou os melhores e mais divertidos momentos em Curitiba. Você é uma pessoa admirável, determinada e persistente. Na minha casa sempre terá o quartinho da Renata.

À Dona Terezinha, que me recebeu em Curitiba e cuidou de mim como uma filha, por todo carinho.

Aos meus amigos, barra-garcenses, mato-grossenses, por serem minha rede de apoio e sempre torcerem por mim.

Às minhas orientadoras, professora Dr<sup>a</sup>. Luciana Igarashi Mafra e Dr<sup>a</sup>. Cristiane Vieira Helm, e ao professor Dr. Marcos Mafra, pelas contribuições no desenvolvimento

deste trabalho, pela confiança, ensinamentos e profissionalismo, que tornaram a elaboração deste trabalho possível e possibilitaram que essa conquista se concretizasse.

Aos diversos professores, técnicos e profissionais com quem cruzei caminhos, pelo auxílio na realização de experimentos, pelo conhecimento transmitido e pelos exemplos que contribuirão para meu desenvolvimento como profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da UFPR, aos Departamentos de Química, Engenharia Química, Nutrição, Farmácia e Bioquímica da UFPR, à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, à Universidade Federal da Integração Latino-Americana, à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), idealizadora do projeto, e a Heide Extratos Vegetais, pela infraestrutura disponibilizada para a execução do projeto.

Ao Laboratório de Termodinâmica e Operações de Separação (LATOS) e ao grupo de pesquisa, pela estrutura, oportunidades e todo conhecimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

À Universidade Pública, a qual devo toda minha formação acadêmica, mas em especial à Universidade Federal do Paraná, que foi a minha segunda casa nos últimos anos, e me possibilitou uma infinidade de experiências e oportunidades. A Universidade Pública é uma instituição transformadora, na qual ingressei aos 16 anos, sem a qual o sonho da Pós-Graduação para uma jovem do interior, não seria possível. Essa instituição moldou a profissional que quero ser, através de bons exemplos de professores, pesquisadores e profissionais que lutam para combater a ignorância através da ciência.

A todos que estiveram comigo nessa jornada e contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

A todos a minha sincera e imensa gratidão.

*“Não sei de nenhum momento da história da  
humanidade em que a ignorância foi melhor  
que o conhecimento”  
(Neil deGrasse Tyson)*

*“Faça o teu melhor, na condição que você  
tem, enquanto você não tem condições  
melhores, para fazer melhor ainda!”  
(Mario Sergio Cortella)*

## RESUMO

A gabioba (*Campomanesia xanthocarpa*) é um fruto nativo das zonas temperadas do Brasil, pertencente à família Myrtaceae. Diversos estudos demonstram o potencial terapêutico e tecnológico da gabioba devido ao seu conteúdo de compostos com atividade biológica, destacando suas propriedades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiglicêmica, entre outras. A maioria dos estudos se concentra na avaliação das folhas, sementes, polpa e frutos inteiros principalmente para obtenção de extratos vegetais. No entanto, a fração lipídica da gabioba permanece pouco explorada e o resíduo não tem sido utilizado como matéria-prima em processos de extração. Diante do potencial da espécie e das lacunas ainda existentes, o presente trabalho investigou o perfil nutricional, químico, biológico e citotóxico do resíduo da gabioba e de seus extratos. O resíduo da gabioba apresentou-se como uma matéria-prima fonte de proteína e de fibras, favorecendo sua aplicação para enriquecimento de alimentos. Na obtenção de extratos vegetais, avaliou-se o efeito dos solventes água, etanol e acetona no teor de compostos bioativos e capacidade antioxidante. O extrato otimizado do resíduo da gabioba (EORG) foi obtido com base nas respostas do delineamento experimental estatístico utilizando modelos matemáticos de regressão. Nesse extrato foram identificados o ácido gálico e quercetina, e observou-se propriedades antioxidante, antimicrobiana, antiglicêmico e citotóxica nas células. Em outro procedimento de extração, utilizando hexano e éter de petróleo como solvente e as técnicas de extração assistida por ultrassom (UAE) e Soxhlet, três amostras de óleo foram obtidas do resíduo da gabioba. Os óleos foram caracterizados por CG-EM e mais de 40 compostos, dentre ácidos graxos e compostos da classe dos terpenos, foram identificados. Os ORG também foram investigados quanto as suas características físico-químicas, estrutura química e comportamento térmico. As técnicas e solventes utilizados resultaram em óleos de composição química semelhantes, e por isso não foram observadas diferenças significativas no comportamento térmico e na estrutura. Além disso, a UAE apresentou um rendimento de extração comparável ao Soxhlet e menor índice de acidez resultando em um óleo de alta qualidade. Os métodos de extração e solventes empregados foram eficientes para obtenção de compostos bioativos e para preservar propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antiglicêmicas dos óleos do resíduo da gabioba (ORG). No entanto, o melhor desempenho da UAE foi observado, resultante também do menor tempo de extração. Os resultados obtidos indicam que o resíduo da gabioba e seus produtos são promissores devido ao valor nutricional e potencial biológico e fornecem evidências para uso como ingrediente funcional para aplicação em modelos medicinais, cosméticos e alimentares.

**Palavras-chave:** sustentabilidade, sociobiodiversidade, frutas brasileiras, antioxidantes, óleo vegetal, compostos bioativos, extração.

## ABSTRACT

Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) is a fruit native to the temperate zones of Brazil, belonging to the Myrtaceae family. Several studies demonstrate the therapeutic and technological potential of gabiroba due to its content of compounds with biological activity, highlighting its antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antiglycemic properties, among others. Most studies focus on the evaluation of leaves, seeds, pulp and whole fruits mainly to obtain plant extracts. However, the lipid fraction of gabiroba remains little explored and the residue has not been used as raw material in extraction processes. Given the potential of the species and the gaps that still exist, this work investigated the nutritional, chemical, biological and cytotoxic profile of gabiroba residue and its extracts. The gabiroba residue was presented as a raw material source of protein and fiber, favoring its application for food enrichment. When obtaining plant extracts, the effect of the solvents water, ethanol and acetone on the content of bioactive compounds and antioxidant capacity was evaluated. The optimized gabiroba residue extract (EORG) was obtained based on the responses of the statistical experimental design using mathematical regression models. In this extract, gallic acid and quercetin were identified, and antioxidant, antimicrobial, antiglycemic and cytotoxic properties were observed. In another extraction procedure, using hexane and petroleum ether as solvent and the ultrasound-assisted extraction (UAE) and Soxhlet techniques, three oil samples were obtained from the gabiroba residue. The oils were characterized by GC-MS and more than 40 compounds, including fatty acids and compounds from the terpene class, were identified. The ORGs were also investigated regarding their physicochemical characteristics, chemical structure and thermal behavior. The techniques and solvents used resulted in oils with similar chemical composition, and therefore no significant differences in thermal behavior and structure were observed. Furthermore, UAE presented an extraction yield comparable to Soxhlet and a lower acidity index resulting in a high-quality oil. The extraction methods and solvents used were efficient to obtain bioactive compounds and to preserve antioxidant, antimicrobial and antidiabetic properties of gabiroba residue oils (ORG). However, the best performance of UAE was observed, also resulting from the shorter extraction time. The results obtained indicate that gabiroba residue and its products are promising due to their nutritional value and biological potential and provide evidence for use as a functional ingredient for application in medicinal, cosmetic and food models.

**Keywords:** sustainability, sociobiodiversity, brazilian fruits, antioxidants, vegetable oil, bioactive compounds, extraction.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – GABIROBEIRA ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ).....	28
FIGURA 2 – GABIROBA ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ): FRUTOS MADUROS (A); FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO (B).....	29
FIGURA 3 – DIAGRAMA DESCRITIVO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISES.....	50
FIGURA 4 – FRUTOS, POLPA E RESÍDUO DA GABIROBA ( <i>C. xanthocarpa</i> ). ....	51
FIGURA 5 – VISÃO GERAL DO MÉTODO DE DIGESTÃO <i>IN VITRO</i> SIMULADO. ....	53
FIGURA 6 – EXTRATOS OBTIDOS DA FARINHA DO RESÍDUO DA GABIROBA A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL. ....	54
FIGURA 7 – PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DO RESÍDUO DA GABIROBA POR SOXHLET (A) E FRAÇÕES LIPÍDICAS OBTIDAS (B). ....	56
FIGURA 8 – ADAPTAÇÃO DOS MÉTODOS PARA EXECUÇÃO EM MICROPLACAS. .....	60
FIGURA 9 – COMPOSTOS BIOATIVOS (A) E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (B) DO RESÍDUO DA GABIROBA APÓS ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> . ....	73
FIGURA 10 – EFEITOS DO TIPO DE SOLVENTE SOBRE O TEOR DE TPC (A), TFC (B), DPPH (C), ABTS (D) E FRAP (E) DE EXTRATOS DO RESÍDUO DA GABIROBA REPRESENTADOS POR GRÁFICO DE CONTORNO....	84
FIGURA 11 – PERFIL DE DESEJABILIDADE DA OTIMIZAÇÃO SIMULTÂNEA DO EXTRATO DO RESÍDUO DA GABIROBA ( <i>C. xanthocarpa</i> ) COM BASE NO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOÍDES TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH, ABTS E FRAP)...	86
FIGURA 12 – CROMATOGRAMA CLAE-DAD DOS COMPOSTOS PRESENTES NO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA. ....	88
FIGURA 13 – INIBIÇÃO DA ENZIMA $\alpha$ -AMILASE E $\alpha$ -GLICOSIDASE FRENTE AO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA. ....	92
FIGURA 14 – CURVAS DE VIABILIDADE IG50 E PERFIL CITOTÓXICO DO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA. (A) LINHAGEM DE FIBROBLASTO HUMANO (HEK293 WT), (B) LINHAGEM DE CANCER DE PULMÃO (H460 WT).....	95

FIGURA 15 – ESPECTRO DE FTIR DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	105
FIGURA 16 – DSC DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA: OBTIDO POR (A) CRISTALIZAÇÃO (50 a -80 °C) E (B) FUSÃO (-80 a 50 °C). .....	109
FIGURA 17 – CURVAS TG E DTG DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA. (A) SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; (B) SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; (C) UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano;.....	111
FIGURA 18 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA CONTRA <i>B. cereus</i> e <i>S. aureus</i> PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM DISCO.....	116
FIGURA 19 – ATIVIDADE INIBITÓRIA DA $\alpha$ -AMILASE E $\alpha$ -GLICOSIDASE PELOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA.....	119
FIGURA 20 – CURVAS DE VIABILIDADE IG50 E PERFIL CITOTÓXICO DO ÓLEO DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDO POR UAE-H. (A) LINHAGEM DE FIBROBLASTO HUMANO (HEK293 WT), (B) LINHAGEM DE CANCER DE PULMÃO (H460 WT).....	122

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DOS FRUTOS DA GABIROBA.....	33
TABELA 2 – COMPOSIÇÃO MINERAL (mg.100g <sup>-1</sup> ) EM AMOSTRAS DE FRUTOS DE <i>C. xantocarpa</i> .....	35
TABELA 3 – COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E FLAVONOIDES DE SEMENTES, FOLHAS E FRUTOS DE <i>Campomanesia xanthocarpa</i> OBTIDOS COM DIFERENTES SOLVENTES. ....	36
TABELA 4 – COMPOSIÇÃO DE CAROTENOIDES NOS FRUTOS DA GABIROBA. .....	38
TABELA 5 – TÉCNICAS E SOLVENTES EMPREGADOS NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA <i>Campomanesia xanthocarpa</i> .....	44
TABELA 6 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL SIMPLEX CENTROIDE PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS DO RESÍDUO DA GABIROBA.....	53
TABELA 7 – PARÂMETROS DA METODOLOGIA DA ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE-DAD.....	61
TABELA 8 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO RESÍDUO DA GABIROBA.....	69
TABELA 9 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FRAÇÕES HIDROFÍLICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA DE ACORDO COM O DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	76
TABELA 10 – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DAS FRAÇÕES HIDROFÍLICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA DE ACORDO O DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	79
TABELA 11 – COEFICIENTES DE REGRESSÃO OBTIDOS PELA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR) PARA AVALIAR OS EFEITOS DA COMBINAÇÃO DE SOLVENTES NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DDO RESÍDUO DA GABIROBA. ....	83
TABELA 12 – VALORES PREDITOS E EXPERIMENTAIS PARA A MISTURA DE 30,4% ÁGUA, 8,3% ETANOL E 61,3 % ACETONA.....	86
TABELA 13 – COMPOSTOS FENÓLICOS IDENTIFICADOS NO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ). ....	87

TABELA 14 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA AVALIADA PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR E DE MICRODILUIÇÃO.....	90
TABELA 15 – PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DO RESÍDUO DA GABIROBA. ....	98
TABELA 16 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS OBTIDAS DO RESÍDUO DA GABIROBA. ....	101
TABELA 17 – PRINCIPAIS PICOS ENCONTRADOS NOS ESPECTROS DE ÓLEOS COMESTÍVEIS E OS GRUPOS FUNCIONAIS CORRESPONDENTES. ....	107
TABELA 18 – EVENTOS TÉRMICOS E SEUS RESPECTIVOS PARÂMETROS OBTIDOS A PARTIR DAS CURVAS DE TG E DTG.....	112
TABELA 19 – TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES, CAROTENOIDES E CAPACIDADES ANTIOXIDANTES DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA.....	113
TABELA 20 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO AVALIADA PELO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO.....	117
TABELA 21 – CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÉDIA (IC <sub>50</sub> ) E VALORES PERCENTUAIS DE INIBIÇÃO DAS ENZIMAS α-AMILASE E α-GLICOSIDASE PELOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA. ....	120
TABELA 22 – IG <sub>50</sub> DO ÓLEO DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDO POR UAE-H. ....	123

## LISTA DE SIGLAS

ABTS	ÁCIDO 3-ETHYLBENZTHIAZOLINE-6-SULFÔNICO
DSC	CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA
CG-EM	CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA A
	ESPECTROMETRIA DE MASSA
CAT	EQUIVALENTE DE CATEQUINA
DPPH	1,1-DIFENIL-2-PICRIL-HIDRAZILA
DTG	DERIVADA DA ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA
ESL	EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO
EORG	EXTRATO OTIMIZADO DO REÍSUO DA GABIROBA
FRAP	PODER ATIOXIDANTE DE REDUÇÃO DO FERRO
FTIR	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (DO INGLÊS, FOURIER-TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY)
GAE	EQUIVALENTE DE ÁCIDO GÁLICO
H460	CÉLULAS DE CANCÊR DE PULMÃO
HEK293	CÉLULAS DE FIBROBLASTOS
CLAE-DAD	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS
MTT	BROMETO DE 3-4,5-DIMETIL-TIAZOL-2-IL-2,5-DIFENILTETRAZÓLIO
ORAC	CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE RADICAIS OXIGENADOS
ORG	ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA
RGS	RESÍDUO DA GABIROBA SECO
RGU	RESÍDUO DA GABIROBA ÚMIDO
SE-H	EXTRAÇÃO POR SOXHLET COM HEXANO
SE-EP	EXTRAÇÃO POR SOXHLET COM ÉTER DE PETRÓLEO
TE	EQUIVALENTE DE TROLOX
TFC	FLAVONOIDES TOTAIS
TGA	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA
TPC	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS
TPTZ	TRIPYRIDIL-S-TRIAZINA
UAE-H	EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM COM HEXANO

## SUMÁRIO

<b>CAPITULO I – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
1.1. INTRODUÇÃO .....	21
1.2. OBJETIVOS .....	23
1.2.1. Objetivo geral .....	23
1.2.2. Objetivos específicos .....	23
<b>CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>25</b>
2.1. SUSTENTABILIDADE E APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS.....	25
2.2. MERCADO BRASILEIRO DE FRUTAS .....	26
2.3. GABIROBA ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ).....	27
2.4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA GABIROBA.....	32
2.4.1. Compostos fenólicos .....	35
2.4.2. Carotenoides.....	38
2.4.3. Óleos.....	40
2.5. PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA GABIROBA .....	43
2.6. CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ESTADO DA ARTE .....	47
<b>CAPÍTULO III – MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>50</b>
3.1. RESUMO GRÁFICO DO TRABALHO.....	50
3.2. COLETA DAS FRUTAS, PREPARO E OBTENÇÃO DO RESÍDUO DA GABIROBA .....	51
3.3. CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO.....	52
3.4. DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i> .....	52
3.5. PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO .....	53
3.5.1. Obtenção da fração hidrofílica por agitação magnética – Design Experimental .....	53
3.5.1.1. Otimização.....	54

3.5.2. Obtenção das frações lipídicas .....	55
3.5.2.1. Extração por Soxhlet.....	55
3.5.2.2. Extração assistida por ultrassom.....	56
3.6. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS .....	57
3.6.1. Compostos fenólicos totais.....	57
3.6.2. Flavonoides totais .....	58
3.6.3. Carotenoides totais .....	58
3.6.4. Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> .....	58
3.6.4.1. Captura do radical livre DPPH.....	58
3.6.4.2. Captura do radical livre ABTS.....	59
3.6.4.3. Método de redução do ferro (FRAP).....	59
3.6.5. Identificação e quantificação de compostos fenólicos por CLAE-DAD.....	60
3.6.6. Identificação e quantificação da fração lipídica por CG-EM .....	61
3.7. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÓLEOS.....	62
3.7.1. Parâmetros físico-químicos .....	62
3.7.2. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).....	62
3.7.3. Comportamento térmico .....	62
3.8. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS .....	63
3.8.1. Atividade antimicrobiana .....	63
3.8.1.1. Microrganismos e preparação da suspensão bacteriana .....	63
3.8.1.2. Método de difusão por disco.....	64
3.8.1.3. Método de microdiluição.....	64
3.8.2. Atividade antiglicêmica .....	65
3.8.2.1. Inibição da enzima $\alpha$ -amilase.....	65
3.8.2.2. Inibição da enzima $\alpha$ -glicosidase.....	66
3.8.3. Citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	67
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	67

<b>CAPITULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>69</b>
<b>Seção I – Composição centesimal e bioacessibilidade do resíduo da gabioba .....</b>	<b>69</b>
4.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO RESÍDUO DA GABIROBA.....	69
4.2. DIGESTÃO GASTROINTESTINAL <i>IN VITRO</i> .....	72
4.3. CONCLUSÃO.....	75
<b>Seção II - Otimização da extração de compostos bioativos e propriedades biológicas do resíduo da gabioba (<i>Campomanesia xanthocarpa</i>) .....</b>	<b>76</b>
4.4. COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS.....	76
4.5. METODOLOGIA SUPERFÍCIE RESPOSTA E PROCESSO DE OTIMIZAÇÃO	81
4.6. EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA .....	87
4.6.1. Identificação e quantificação de compostos fenólicos.....	87
4.6.2. Atividade antimicrobiana .....	89
4.6.3. Atividade inibitória da enzima $\alpha$ -amilase .....	91
4.6.4. Citotoxicidade <i>in vitro</i> .....	94
4.7. CONCLUSÃO.....	97
<b>Seção III – Óleo do resíduo da gabioba (<i>Campomanesia xanthocarpa</i>): caracterização e propriedades biológicas .....</b>	<b>98</b>
4.8. RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS.....	98
4.9. CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA.....	100
4.9.1. Composição química.....	100
4.9.2. Análise no espectro infravermelho .....	104
4.9.3. Comportamento térmico .....	108
4.9.4. Conteúdo de compostos bioativos e capacidade antioxidante .....	113
4.10. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS .....	116

4.10.1. Atividade antimicrobiana .....	116
4.10.2. Atividade inibitória da $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidase .....	118
4.10.3. Citotoxicidade <i>in vitro</i> do óleo UAE-H .....	122
4.11. CONCLUSÃO.....	126
<b>CAPÍTULO V – CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>129</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>130</b>

## **CAPÍTULO I**

### *Introdução e Objetivos*

---

## CAPITULO I – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

---

### 1.1. INTRODUÇÃO

Desde os tempos antigos, as plantas têm sido usadas em todo o mundo por seus poderes medicinais. A crescente demanda por questões relacionadas à saúde, bem-estar e nutrição, tem aumentado o interesse das indústrias de alimentos e farmacêuticas na obtenção de compostos bioativos de origem vegetal, afim de aplicá-los no desenvolvimento de novos produtos e medicamentos, agregando propriedades importantes e desejáveis para a manutenção da saúde humana.

A diversidade de espécies endêmicas brasileiras, especialmente espécies frutíferas, têm despertado atenção devido ao valor agroindustrial, alimentar e terapêutico, mas ainda permanecem subutilizadas e pouco exploradas (ARCARI et al., 2020; PEREIRA et al., 2012; SARDI et al., 2017). A *Campomanesia xanthocarpa*, popularmente conhecida como gabioba, é uma árvore nativa do Sul e Centro-Oeste do Brasil, pertencente à família Myrtaceae (RAPHAELLI et al., 2021). Esta espécie apresenta excelente potencial econômico, comprovado pelo número de publicações científicas que avaliaram suas propriedades farmacológicas e tecnológicas e pela exploração de frutos comestíveis para produção artesanal de doces e bebidas, óleos essenciais e uso como planta ornamental.

O interesse na *C. xanthocarpa* decorre primeiramente do seu potencial terapêutico e tecnológico. Os extratos de *C. xanthocarpa* apresentam propriedades biológicas promissoras devido ao seu conteúdo de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, carotenoides, vitaminas, minerais, fibras e outros. O óleo da semente se mostrou uma boa fonte de ácidos graxos poli-insaturados (SANTOS et al., 2012a). Alguns estudos apresentados na literatura confirmam os efeitos benéficos dessa planta prevenindo a ulceração gástrica, atuando na diminuição dos níveis de colesterol e controle do excesso de peso e no manejo do diabetes mellitus (BIAVATTI et al., 2004; KLAFKE et al., 2010; MARKMAN; BACCHI; KATO, 2004), além de demonstrar atividade biológica como agente antimicrobiano, antioxidante (PEREIRA et al., 2015) e anti-inflamatório (SILVA et al., 2016). Extratos das folhas e frutos da gabioba têm sido utilizados popularmente para fins medicinais (CZAIKOSKI et al., 2015). Foi relatado o emprego do chá das folhas para tratamento da obesidade e redução dos níveis de glicose no sangue (DICKEL; RATES; RITTER, 2007) de feridas,

sintomas associados a gripe, febre, diarreias e problemas do trato urinário (MOURA-COSTA et al., 2012). Além disso, a polpa e os frutos já foram utilizados no desenvolvimento de iogurte fermentado (PRESTES et al., 2021), filmes biodegradáveis (SILVA-RODRIGUES et al., 2020) e para extração de pectinas (AMARAL et al., 2019; BARBIERI et al., 2019; DIAS et al., 2020).

Apesar dos vários relatos disponíveis na literatura sobre folhas, polpa, sementes e frutos inteiros, não há informações sobre produtos obtidos do resíduo da gabioba. No processo de despolpa da gabioba, cerca de 40% de resíduos, compostos por casca, semente e cálice, são gerados (BARBIERI et al., 2018). A valorização dessa matéria-prima é fundamental para transformá-la em produtos com valor agregado. Os resíduos agroindustriais têm se tornado uma importante base de estudos devido as possibilidades inovadoras e de baixo custo para obtenção de compostos bioativos e produtos com diversas propriedades de interesse industrial.

Como a extração pode afetar a quantidade e a qualidade das moléculas bioativas, uma investigação aprofundada desse processo é essencial. Dentre os fatores que podem afetar a eficiência dos processos de extração, os principais são a escolha do solvente e técnica de extração. Solventes polares e apolares podem ser utilizados nos processos de extração, o que vai influenciar na solubilização e tipo de composto obtido. Logo, é fundamental conhecer as características das moléculas de interesse, bem como compreender a afinidade do soluto pelo solvente. Já a técnica de extração determina aspectos como tempo e temperatura, parâmetros importantes para manutenção da atividade biológica dos compostos.

Diante do contexto apresentado, o presente trabalho tem como motivação contribuir com o desenvolvimento científico dessa espécie e de seus produtos. Cooperativas no interior do estado do Paraná em parceria com a Embrapa Florestas, investem no cultivo dos frutos da gabioba e estudos sobre a composição química, aplicações na saúde humana, potencial de uso alimentar e processos de extração compatíveis, geram benefícios socioeconômicos, impactos positivos ao meio ambiente e contribuem para a valorização da espécie incentivando seu uso comercial. Tendo em vista a importância de novas fontes naturais de compostos bioativos e a valorização de resíduos e culturas alimentares da sociobiodiversidade brasileira, a proposta deste trabalho consiste no aproveitamento de resíduos da gabioba para obtenção de extratos ricos em compostos bioativos com potencial para aplicações alimentares e farmacêuticas.

## 1.2. OBJETIVOS

### 1.2.1. Objetivo geral

Caracterizar o resíduo da gabiroba e avaliar a composição química e propriedades biológicas de seus extratos hidrofílicos e lipídicos para aplicações medicinais, cosméticas e alimentícias.

### 1.2.2. Objetivos específicos

- i. Caracterizar o resíduo da gabiroba quanto a sua composição centesimal e bioacessibilidade;
- ii. Obter as frações hidrofílicas do resíduo da gabiroba empregando uma mistura de solventes composta por água, etanol e acetona;
- iii. Avaliar os efeitos da água, etanol e acetona na obtenção de compostos fenólicos e capacidade antioxidante das frações hidrofílicas;
- iv. Modelar e otimizar o processo de extração utilizando a metodologia de superfície resposta;
- v. Validar o modelo experimentalmente para obtenção do extrato otimizado do resíduo da gabiroba (EORG);
- vi. Identificar e quantificar os compostos fenólicos presentes no EORG por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo (CLAE-DAD);
- vii. Obter as frações lipídicas do resíduo da gabiroba utilizando hexano e éter de petróleo e as técnicas de extração assistida por ultrassom (UAE) e Soxhlet;
- viii. Identificar os compostos presentes nos extratos hidrofóbicos utilizando cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM);
- ix. Caracterizar os extratos hidrofóbicos quanto aos parâmetros físico-químicos, comportamento térmico (DSC e TGA) e ligações químicas (FT-IR);
- x. Avaliar as propriedades biológicas dos extratos hidrofílicos e hidrofóbicos quanto potencial antioxidante, antidiabético, antimicrobiano, antitumoral;
- xi. Explorar o potencial de aplicação do resíduo da gabiroba considerando as características estudadas.

**CAPÍTULO II***Revisão da Literatura*

---

## CAPÍTULO II – REVISÃO DA LITERATURA

---

### 2.1. SUSTENTABILIDADE E APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS

A demanda pela produção de alimentos vem promovendo o aumento na geração de resíduos agroindustriais, que embora fossem vistos como um grande problema, atualmente são vistos como estratégia para o desenvolvimento de processos industriais sustentáveis. Os problemas associados a geração e descarte de resíduos industriais consistem principalmente na contribuição para acúmulo de biomassa, potencial microbiológico e combustível devido sua biodisponibilidade e carga orgânica altamente energética (FREITAS et al., 2021). Estima-se que um terço dos alimentos (aproximadamente 1,3 mil milhões de toneladas) produzidos globalmente para consumo humano é perdido ou desperdiçado todos os anos, sendo que frutas e vegetais, além de raízes e tubérculos, representam cerca de 40-50% (RAVINDRAN et al., 2018).

O Brasil é rico em espécies frutíferas tropicais nativas e/ou exóticas de grande potencial agroindustrial. As frutas são frequentemente apresentadas aos consumidores em diversas formas, como geleias, sucos, concentrados e pastas. Durante o processamento, as indústrias alimentícias geram grandes quantidades de resíduos considerados poluentes ambientais e que devem ser descartados de forma sustentável (BARBOSA et al., 2021). Esses resíduos são a parte da matéria-prima que é rejeitada durante o processamento na indústria e incluem cascas, sementes, caules, raízes, restos de polpa e bagaço, apresentando elevado valor nutricional (GÓMEZ-GARCÍA et al., 2021), pois contém açúcares, vitaminas, fitoquímicos e nutrientes minerais, além de ser rico em fibras, óleos e outros compostos com propriedades funcionais (SILVA; JORGE, 2014). Esses produtos possuem alto valor agregado e podem ser extraídos e utilizados como novas matérias-primas industriais, uma vez que apresentam diversas propriedades como atividade antioxidante, anti-inflamatórias, antidiabéticas, anticancerígenas, antimicrobianas e antiproliferativas (FREITAS et al., 2021).

A economia do processamento de culturas tropicais pode ser melhorada através do desenvolvimento de aplicações de maior valor para seus subprodutos (AYALA-ZAVALA et al., 2011). O conceito de economia circular tem promovido estra-

tégias adequadas para gerir e valorizar estes subprodutos para reduzir a poluição e promover um crescimento sustentável, desenhando e criando novos fluxos de receitas (GÓMEZ-GARCÍA et al., 2021) O reaproveitamento sustentável da biomassa proveniente de resíduos agroindustriais visando a produção de alimentos, medicamentos, compostos biologicamente ativos, biomateriais e geração sustentável de energia é, sem dúvida, uma das alternativas (FREITAS et al., 2021). Neste quadro, a valorização de resíduos emergiu como uma estratégia fundamental para uma produção amiga do ambiente.

## 2.2. MERCADO BRASILEIRO DE FRUTAS

As frutas são cultivadas em praticamente todos os países do mundo. De acordo com o panorama mundial, a produção e o consumo de frutas apresentam crescimento contínuo. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2022) a produção mundial de frutas atingiu o volume de 909,6 milhões de toneladas, obtidos em cerca de 80,4 milhões de hectares somente em 2021. O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, com uma produção de 39,8 milhões de toneladas (4,4% do total), ficando atrás apenas da China (27,9% da produção mundial) e Índia (11,9% da produção mundial), o que mostra a relevância do setor para a economia brasileira. O valor da produção apurado ultrapassa R\$ 33,5 bilhões de reais e a área cultivada supera 2,5 milhões de hectares (HAROLDO et al., 2021). As maiores áreas cultivadas com fruticultura no Brasil estão no Nordeste, aproximadamente 52,4%, seguido pelo Sudeste onde estão quase 26% da área implantada no País. Em 2021, o Brasil exportou mais de 20 tipos de frutas, com concentração em oito delas (80%), banana, cacau, uva, manga, mamão, maracujá, coco e laranja. Outros frutos menos exportados são o abacate, abacaxi, figo, caqui e goiaba. Melão, manga e uva foram responsáveis por quase 70% do total do valor das exportações de frutas do Nordeste (VIDAL, 2023). Naquele mesmo ano, as exportações de frutas frescas e processadas ultrapassaram o montante de 1 bilhão de dólares. A participação na produção nacional em 2018 foi maior para região Sudeste (51,6%) e o maior estado produtor, São Paulo, compreende 24,9% do valor de produção, gerando uma receita de R\$ 6,6 bilhões (IBGE, 2019).

A fruticultura é um dos setores de maior destaque do agronegócio brasileiro. Através de uma grande variedade de culturas, produzidas em todo o país e em

diversos climas, a fruticultura conquista resultados expressivos e gera oportunidades para os pequenos negócios brasileiros. Estima-se que, para cada hectare cultivado, duas pessoas são empregadas nesse segmento agrícola, ou seja, 5 milhões de empregos no País são oferecidos no agronegócio fruticultor, indicador o qual enfatiza sua importância socioeconômica (HAROLDO et al., 2021).

Mesmo com a importância do setor para a economia brasileira, existem frutas que apresentam baixa produção, logo não possuem registros sobre o volume produzido e a receita gerada. Um exemplo é a gabioba que se destaca pelo valor dos seus frutos e por ser produzida por pequenos produtores. O estudo químico e do potencial funcional dessas frutas e suas partes servem como um incentivo para que sejam mais exploradas comercialmente e seu cultivo seja difundido no Brasil.

### 2.3. GABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*)

As regiões do Sul do Brasil apresentam grande riqueza em frutos silvestres, dentre as quais a família botânica Myrtaceae se destaca por apresentar o maior número de espécies com potencial alimentar e farmacêutico ainda pouco explorado (PEREIRA et al., 2018a). A família Myrtaceae é umas das famílias mais importantes em florestas tropicais (STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011). Apresenta 121 gêneros representados por aproximadamente 5800 espécies de árvores perenes ou arbustos com frutos comestíveis distribuídos em áreas tropicais e subtropicais (FARIAS et al., 2020) da América do Sul, Sudeste Asiático e Austrália, e possuem candidatos promissores para plantas medicinais (DONADO-PESTANA et al., 2018).

Muitas espécies de frutas da família Myrtaceae são de grande importância econômica e são reconhecidas por seu alto valor nutricional e por serem fontes de compostos bioativos (FARIAS et al., 2020). Essas árvores são cultivadas em jardins domésticos por seus frutos comestíveis e têm sido usadas na medicina tradicional para tratar várias condições inflamatórias (REYNERTSON et al., 2008).

O gênero *Campomanesia*, representado por arbustos e árvores, faz parte da família Myrtaceae (LESCANO et al., 2019), sendo 42 espécies reconhecidas no Brasil, das quais 35 ocorrem na Floresta Atlântica (LUBER et al., 2017). As espécies de *Campomanesia* têm importância econômica bastante diversificada, sendo que alguns dos seus frutos, além de serem consumidos *in natura*, também são utilizados na forma

de doces, sorvetes, refrescos e, muitas vezes, como flavorizantes em destilados alcoólicos (VALLILO et al., 2006).

A *Campomanesia xanthocarpa*, popularmente conhecida como 'gabiropa', 'guavirova', ou 'guabiropa', é uma espécie nativa do Brasil que ocorre na Mata Atlântica (KLAFKE et al., 2010; LEANDRO et al., 2021), pertencente à família Myrtaceae, assim como a goiaba (*Psidium guajava*), o araçá (*Psidium cattleianum*) e a uvaia (*Eugenia pyriformis*) (SILVA-RODRIGUES et al., 2020). Juntamente com a *C. xanthocarpa*, essas espécies são exemplos de plantas usualmente utilizados na medicina popular e cultivadas em hortas caseiras que apresentam grande potencial de exploração econômica, visto que apresentam alta produtividade com baixos custos de implantação e manutenção (PEREIRA et al., 2012). Diante desses fatores, a gabiropa possui grande potencial para cultivo comercial, devido às suas características agrônômicas desejáveis, alto rendimento, polpa abundante e succulenta, além da cor, sabor e aroma característicos (ARCARI et al., 2020). No entanto, apesar de seu potencial, a gabiropa ainda é pouco utilizada comercialmente (SILVA-RODRIGUES et al., 2020).

A gabirobeira (FIGURA 1) é uma planta de ampla distribuição, podendo ser encontrada nas regiões Sul e Sudeste do Brasil em estados cuja o bioma é característico da Mata Atlântica, sendo relatada na literatura a sua presença também no Paraguai, Argentina e Uruguai (REGGINATO et al., 2021; SANTOS et al., 2013; VALLILO et al., 2008; VINAGRE et al., 2010).

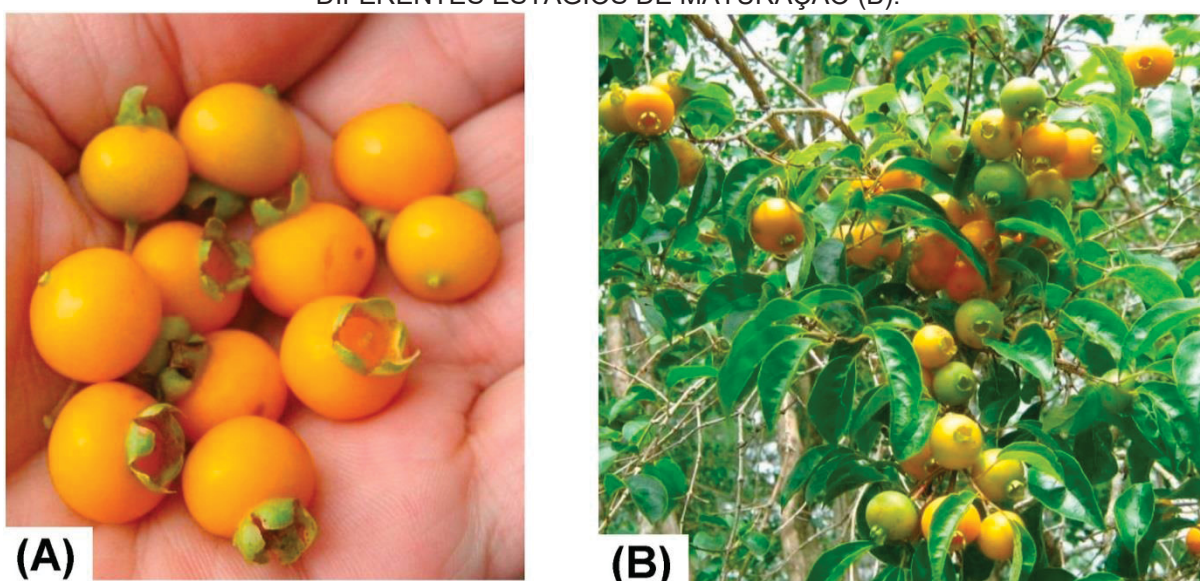
FIGURA 1 – GABIROBEIRA (*Campomanesia xanthocarpa*).



Seu florescimento ocorre de agosto a novembro, e a frutificação, de setembro a dezembro, podendo estender-se até fevereiro (ALVES et al., 2013). A espécie se apresenta como arbusto, arvoreta ou árvore de 10 a 20 m de altura e até 60 cm de diâmetro; os ramos jovens são glabros. As folhas são verdes e opostas, simples, membranáceas, ovalado-oblongas, medindo de 4-10 cm de comprimento por 3-4,5 cm de largura (VALLILO et al., 2008). As sementes de gabioba são marrons e apresentam formato cilíndrico plano. Estão localizados no interior do fruto protegidos pelo endocarpo e recobertos por mucilagem (SANTOS et al., 2012a). As sementes podem ser consumidas *in natura* e aproveitadas industrialmente com a polpa ou descartadas como resíduo. Porém, as sementes possuem ácidos graxos essenciais e alto teor de terpenoides e alcaloides com potencial para uso industrial. Os extratos de sementes de gabioba possuem atividades antioxidantes e antimicrobianas (CAPELETTO et al., 2016; RAPHAELLI et al., 2021).

Os frutos são bagas globosas, achatadas nos polos, de cor verde quando jovens e amarelos e adocicados quando maduros (FIGURA 2) (VALLILO et al., 2008). Pesa em média 6 g, sendo composto por 7% de cálice, 16% de sementes, 17% de casca e 60% de polpa (SANTOS et al., 2009, 2012b). Possui polpa amarela comestível carnuda e suculenta, sabor doce e altamente aromático, abrigando, na maioria das vezes, de 2-6 sementes, ovaladas, achatadas (RAPHAELLI et al., 2021).

FIGURA 2 – GABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*): FRUTOS MADUROS (A); FRUTOS EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO (B).



FONTE: Raphaelli et al. (2021)

As propriedades nutricionais da polpa da gabirola a tornam adequada para consumo *in natura* e como matéria-prima com excelentes propriedades para aplicação na indústria de bebidas, sorvetes e geleias (BARBIERI et al., 2018). Os fitoquímicos dos frutos e folhas da gabirola têm recebido atenção pelo seu potencial no desenvolvimento de medicamentos pela indústria farmacêutica (RAPHAELLI et al., 2021).

As folhas de *C. xanthocarpa* são amplamente utilizadas como infusão na medicina popular no tratamento de doenças (LEANDRO et al., 2021). Estudos demonstraram que os extratos das folhas de *C. xanthocarpa* apresentaram efeitos antioxidante (KLAFKE et al., 2016), hipotensor (SANT'ANNA et al., 2017), anti-inflamatório (SILVA et al., 2016), antiulcerogênico (MARKMAN; BACCHI; KATO, 2004), hipoglicêmico (VINAGRE et al., 2010), efeito fotoprotetivo (CATELAN et al., 2019), atividades antifibrinolítica, antiplaquetária e antitrombótica (KLAFKE et al., 2010; OTERO et al., 2017), além de demonstrar atividade anti-inflamatória em animais hipercolesterolêmicos (KLAFKE et al., 2016) e reduzir o estresse oxidativo em indivíduos hipercolesterolêmicos e melhorar os níveis de óxido nítrico (VIECILI et al., 2014). Dickel; Rates; Ritter, (2007) confirmaram que a infusão das folhas é popularmente utilizada para redução da obesidade e níveis elevados de glicose no sangue pela população de Porto Alegre, região sul do Brasil. No entanto, os autores afirmam que os dados obtidos são insuficientes para garantir a eficácia e segurança da espécie para o tratamento da obesidade, sendo necessários mais estudos.

Alguns estudos procuraram elucidar a composição química de diferentes partes da gabirola como polpa e sementes, demonstrando seu potencial antioxidante, antimicrobiano e terapêutico (ARCARI et al., 2020; CZAİKOSKI et al., 2015; SALMAZZO et al., 2019; SCHMIDT et al., 2019; SOUZA-MOREIRA et al., 2011).

Outros trabalhos abordaram diferentes tecnologias para o uso da gabirola na indústria de alimentos. Ao usar a gabirola para fazer geleia, foi demonstrado que o alimento processado ainda apresenta alto valor nutricional, com altos teores de vitamina C e também a presença de compostos fenólicos e carotenoides, com destaque para o  $\beta$ -caroteno (SANTOS et al., 2013). A polpa da gabirola também foi utilizada como reforço na produção de filmes comestíveis biodegradáveis sem glúten a partir da farinha de arroz. A adição da polpa de gabirola *in natura* melhorou as propriedades mecânicas, óticas e de barreira ao vapor de água dos filmes. Os resultados obtidos no estudo em questão justificam o uso da polpa de gabirola como

reforço para filmes de farinha de arroz sem glúten e sugerem que esses filmes têm potencial para aplicação como embalagens de alimentos comestíveis e biodegradáveis, reduzindo assim o acúmulo de resíduos no meio ambiente (SILVA-RODRIGUES et al., 2020). No trabalho de Prestes et al. (2021) a polpa da gabioba foi adicionada nas concentrações de 5 e 10% em leites fermentados com *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*. Após a adição de *Bifidobacterium BB-12*, as amostras foram submetidas a uma simulação gastrointestinal progressiva *in vitro*, onde observou-se maior taxa de sobrevivência dos microrganismos, maior conteúdo fenólico total e maior atividade antioxidante na amostra com adição de 10% de polpa de gabioba.

A extração e caracterização de compostos bioativos obtidos das sementes da gabioba foram realizados, encontrando-se uma fonte de ácidos graxos poli-insaturados (SANTOS et al., 2012a) e sendo observadas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (CAPELETTO et al., 2016). Regginato et al., (2021) realizaram a extração das sementes com CO<sub>2</sub> supercrítico e avaliaram os extratos quanto aos efeitos hipoglicêmicos e hipolipidêmicos em roedores. Os resultados mostraram que os extratos foram capazes de diminuir os níveis de glicose no sangue e aumentar o conteúdo de glicogênio muscular e hepático. Além disso, produziram uma diminuição nos níveis séricos de colesterol total e LDL e aumento dos níveis de colesterol HDL. Este estudo fornece evidências que justificam o uso da *C. xanthocarpa* na medicina popular para tratar diabetes e hipercolesterolemia.

Embora se encontre muitos trabalhos na literatura relacionados a *C. xanthocarpa*, pouca atenção foi dada aos resíduos resultantes do processamento da fruta para a produção de polpa, doces e geleias. De maneira semelhante, não existem dados na literatura sobre a obtenção de óleo vegetal a partir do resíduo. A busca por substâncias naturais, biologicamente ativas e de baixo custo, tem elevado o número de pesquisas com os resíduos do processamento das frutas, como casca e semente, que são considerados fontes potenciais de nutrientes (ALVES et al., 2013). O interesse por esses componentes naturais não se deve apenas ao seu valor biológico, mas também ao seu impacto econômico, uma vez que a maioria deles pode ser extraída de subprodutos alimentares (LOURENÇO; MOLDÃO-MARTINS; ALVES, 2019). Alguns alimentos vegetais podem potencialmente conter maior teor de compostos antioxidantes nos resíduos como pele, casca e sementes do que na polpa,

e o perfil fitoquímico pode ser diferente nessas partes da planta (SANTOS et al., 2012a).

Dentre os compostos presentes nas frutas e em seus resíduos, aqueles com ação antioxidante têm despertado o interesse da comunidade científica (ALVES et al., 2013). Estudos indicam que o consumo diário de frutas e hortaliças pode contribuir para prevenção de diversas doenças, e que esses efeitos protetores podem ser resultado da ingestão de antioxidantes que estão presentes nesses alimentos (PERTUZATTI et al., 2015).

No que diz respeito à saúde humana, os compostos fenólicos e seus derivados, incluindo antocianinas, flavonóis e ácidos fenólicos, juntamente com os carotenoides e a vitamina C, são responsáveis pela diminuição do risco de muitas doenças associadas ao estresse oxidativo (SANTOS et al., 2012a). A gabioba apresentou a maior atividade antioxidante entre três frutas nativas brasileiras da família Myrtaceae (araçá-amarelo e uvaia), principalmente devido ao seu teor de compostos fenólicos, vitamina C e carotenoides (PEREIRA et al., 2012).

O conhecimento da composição físico-química, a identificação e quantificação dos componentes bioativos de frutos nativos do Cerrado e Mata Atlântica e de seus resíduos são importantes para a compreensão do seu valor nutricional e contribuem para agregar valor e potencializar o uso comercial e industrial destes frutos (ALVES et al., 2013; MENDES; PINTO; SOARES, 2018; SOUZA et al., 2012).

#### 2.4. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA GABIROBA

Estudos encontrados na literatura relacionados a *C. xanthocarpa* concentram-se no valor nutricional de seus frutos. A TABELA 1 apresenta a composição química da gabioba encontrada na literatura.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL DOS FRUTOS DA GABIROBA.

Composição	Pereira et al., (2012)	Santos et al., (2012b)	Vallilo et al., (2008)	Embrapa (2015)
Umidade (%)	82,21	79,2	81,4	-
Cinzas (%)	0,47	0,68	0,5	-
Proteínas (%)	5,53	1,10	1,1	1,3
Lipídios (%)	3,7	1,31	1,9	0,62
Fibras (%)	9,75	9,88	6,3	6,51
Carboidratos (%)	15,68	17,71*	8,9*	7,75
Açúcares redutores (%)	34,06	6,77	-	-
Açúcares totais (%)	34,45	7,88	-	-
Vitamina C (mg AA/100g)	3058	313	17,8	826
Vitamina A (µg.g <sup>-1</sup> )	6,84	-	-	-
Valor energético total (Kcal.100 g <sup>-1</sup> )	-	-	54	39

\*Valores obtidos por diferença;

A caracterização físico-química do fruto maduro indicou que a polpa apresenta pH 3,89 e acidez titulável em média de 0,41 (% ácido cítrico). O teor de sólidos solúveis totais pode variar de 12-15°Brix (PEREIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2009).

Os principais açúcares encontrados na gabiropa são frutose, glicose e sacarose encontrando-se de 3,67 – 4,0%, 3,11 – 4,3% e 1,11 – 1,4%, respectivamente (SANTOS et al., 2009, 2012b). A concentração destes açúcares é importante para a qualidade da fruta pois influencia diretamente no sabor e doçura da gabiropa. Assim como a maioria das frutas, a gabiropa apresenta maior teor de carboidratos em relação a proteínas e lipídios. No entanto, a quantidade de lipídios observada na TABELA 1 para os frutos da gabiropa, foi elevada quando comparada a outros frutos como o araçá-amarelo (1,53%), uvaia (0,52%), banana (0,3%), mamão (0,8%) e laranja (média de 1,2%) (PEREIRA et al., 2012). Santos et al., (2012a) mostraram que os lipídios extraídos de sementes da gabiropa incluíam ácidos graxos essenciais (AGE), como o oleico e linoleico.

A gabiropa também é considerada rica em fibras, com alto teor de fibras solúveis, principalmente pectinas (BARBIERI et al., 2019). Esses polímeros são importantes na indústria de alimentos, devido às suas propriedades gelificantes e estabilizantes. Além disso, os polissacarídeos pécticos têm aplicações farmacológicas, como atividades imunorregulatórias, antiinflamatórias, hipoglicêmicas, antioxidantes e antitumorais (RAPHAELLI et al., 2021).

A polpa da gabiropa *in natura* se mostrou promissora para extração de polissacarídeos como galactoglucomana (BARBIERI et al., 2017) e pectinas (AMARAL et al., 2019; BARBIERI et al., 2019; DIAS et al., 2020). No trabalho de

Amaral et al., (2019) a gabirola foi apresentada como uma nova fonte de pectina com efeito citotóxico seletivo em células de glioblastoma (tumor cerebral). Uma diminuição de até 38% na viabilidade das células tumorais foi observada de acordo com a concentração. Os autores observaram um aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio sugerindo que essas pectinas poderiam mediar a citotoxicidade alterando o estado redox celular.

Dentre as vitaminas presentes na fruta, destaca-se a quantidade de vitamina C (TABELA 1), que é superior à quantidade observada em outras frutas nativas como o araçá-amarelo, uvaia e acerola (PEREIRA et al., 2012). Schmidt et al., (2019) avaliaram o teor de vitaminas C e A da gabirola e encontraram valores que variaram entre 24-37 mg.g<sup>-1</sup> e 50-131 µg.g<sup>-1</sup>, respectivamente. A vitamina C funciona como doadora de elétrons no organismo, por isso é considerada um potente antioxidante e seu consumo protege o indivíduo contra uma série de doenças. Gabirola também contém quantidades consideráveis de vitamina A, que tem um papel central na fisiologia da retina, na biologia reprodutiva, na remodelação óssea e na manutenção e diferenciação dos tecidos epiteliais (RAPHAELLI et al., 2021). Além dessas, também foram encontradas as vitaminas do complexo B, sendo elas tiamina (0,2 µg.g<sup>-1</sup>), riboflavina (1,5 µg.g<sup>-1</sup>), ácido pantotênico (25,9 µg.g<sup>-1</sup>), piridoxina (15,2 µg.g<sup>-1</sup>) e biotina (0,3 µg.g<sup>-1</sup>) (SCHMIDT et al., 2019).

No geral, os frutos *in natura* de *C. xanthocarpa* apresentam baixo valor calórico (54-39 kcal.100 g<sup>-1</sup>) (TABELA 1) o que está relacionado, principalmente, ao alto teor de umidade e, por conseguinte, uma menor concentração de açúcares, lipídios e proteínas em suas estruturas (VALLILO et al., 2008).

A gabirola possui também quantidades consideráveis de minerais, conforme apresentado na TABELA 2. Esses micronutrientes têm diversas funcionalidades para o metabolismo e homeostase do corpo, dentre elas contrações musculares, geração de energia, coagulação sanguínea, saúde do sistema imunológico e transmissão nervosa (GHARIBZAHEDI; JAFARI, 2017). Na gabirola foram encontradas maiores concentrações de ferro (0,48-0,64 mg.100 g<sup>-1</sup>) (TABELA 2) em comparação a outras frutas como a banana (0,3 mg.100 g<sup>-1</sup>) e a maçã (0,1 mg.100 g<sup>-1</sup>). Esse mineral é essencial para combater o estresse oxidativo, associado às principais doenças crônicas (RAPHAELLI et al., 2021; VALLILO et al., 2008).

TABELA 2 – COMPOSIÇÃO MINERAL (mg.100g<sup>-1</sup>) EM AMOSTRAS DE FRUTOS DE *C. xantocarpa*.

Componentes	Teores	
	Embrapa (2015)	Vallilo et al., (2008)*
Ferro	0,48	0,64
Cobre	1,14	0,33
Zinco	1,37	0,4
Manganês	2,37	0,12
Sódio	16,05	2,6
Fósforo	19,51	14,9
Magnésio	77,94	13,5
Cálcio	161,38	10,1
Potássio	193	208

\*Valores expressos em base úmida. Teor de umidade em média de 81%.

A composição química de plantas é afetada por fatores ambientais e agrônômicos que incluem radiação ultravioleta (duração e intensidade), temperatura, água disponível e fertilidade do solo (PERTUZATTI et al., 2014; YANG et al., 2018), portanto uma mesma espécie pode apresentar composição distinta devido a condições de cultivo diferentes. Isso é demonstrado no trabalho de Schmidt et al., (2019) que observou uma variação no teor de compostos bioativos de frutos da gabirobeira colhidos em três regiões diferentes do sul do Brasil.

Diferentes compostos bioativos, com atividade para diversas doenças derivadas do estresse oxidativo no organismo, estão presentes na gabirobeira (RAPHAELLI et al., 2021). A parte comestível de frutas contém quantidades consideráveis de nutrientes e fitoquímicos, como ácidos orgânicos, açúcares, vitaminas, polissacarídeos, polifenóis e minerais importantes (SERAGLIO et al., 2018). Estudos mostraram a presença de compostos fenólicos, como flavonoides e ácidos fenólicos e carotenoides nos frutos e folhas (PEREIRA et al., 2012; SOUZA-MOREIRA et al., 2011), bem como a ocorrência de óleos essenciais, principalmente nas folhas e sementes, contendo terpenoides e alcaloides com potenciais fins farmacológicos (CAPELETTO et al., 2016).

#### 2.4.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são importantes para as plantas para proteção contra radiação ultravioleta, pigmentação, crescimento, reprodução, resistência a patógenos e muitas outras funções, estando presentes nas folhas, cascas, polpas e sementes de frutas (RAPHAELLI et al., 2021). A concentração de compostos fenólicos e flavonoides encontrada nas sementes, folhas e frutos da gabirobeira, relatada por diversos autores e utilizando diferentes solventes encontra-se na TABELA 3.

TABELA 3 – COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E FLAVONOIDES DE SEMENTES, FOLHAS E FRUTOS DE *Campomanesia xanthocarpa* OBTIDOS COM DIFERENTES SOLVENTES.

Compostos bioativos	Parte	Solvente	Valor encontrado	Referência
<b>Compostos fenólicos totais</b> (mg de ácido gálico/g) *Valores expressos em: (mg de ácido clorogênico/g)	Sementes	CO <sub>2</sub>	17,2	(CAPELETTO et al., 2016)
		n-Butanol	68,6	(CAPELETTO et al., 2016)
		Etanol	177	(SANTOS et al., 2012a)
		Hexano	43,3	(SANTOS et al., 2012a)
		Clorofórmio	64,5	(SANTOS et al., 2012a)
		Acetato de etila	86,37	(SANTOS et al., 2012a)
	Folhas	Etanol	486	(CATELAN et al., 2019)
		Etanol	35,9	(LEANDRO et al., 2021)
		Etanol:Água	99,2	(SILVA et al., 2016)
		Água	346	(SOUSA et al., 2019)
Fruta	CO <sub>2</sub>	39,12	(CZAIKOSKI et al., 2015)	
	Etanol:água	1,32	(SANTOS et al., 2012b)	
	Metanol	90,3*	(PEREIRA et al., 2012)	
<b>Flavonoides</b> (mg de quercetina/g) Valores expressos em: **(mg de rutina/g) *** (mg de catequina/g)	Sementes	CO <sub>2</sub>	2,3	(CAPELETTO et al., 2016)
		n-Butano	8,1	(CAPELETTO et al., 2016)
	Folhas	Etanol	369**	(CATELAN et al., 2019)
		Etanol	23,3	(LEANDRO et al., 2021)
		Etanol:água	22	(SILVA et al., 2016)
		Água	3,28	(SOUSA et al., 2019)
		Etanol:água	0,05***	(DALASTRA et al., 2019)
	Fruta	Etanol	0,68	(SANTOS et al., 2012b)

Os extratos das folhas da gabiroba apresentam uma faixa de concentração de compostos fenólicos totais elevada em relação aos extratos obtidos das sementes e frutos. As maiores concentrações de compostos fenólicos foram encontradas no extrato etanólico e aquoso das folhas com valores de 486 mg equivalente de ácido gálico/g (mg GAE.g<sup>-1</sup>) (CATELAN et al., 2019) e 346 mg GAE.g<sup>-1</sup>, respectivamente (SOUSA et al., 2019). Na semente, a maior concentração encontrada foi de 177 mg GAE.g<sup>-1</sup> obtida com etanol (SANTOS et al., 2012a). A fruta inteira apresentou os teores mais baixo desses compostos. Pereira et al. (2012) encontrou valores de 90 mg GAE.g<sup>-1</sup> para os frutos frescos, enquanto Czaikoski et al. (2015) encontrou um valor de 39 mg GAE.g<sup>-1</sup> para extratos dos frutos secos. Essas informações sugerem que os compostos fenólicos estão mais concentrados em partes geralmente descartáveis da planta, como folhas, sementes e casca, e que a presença da polpa, que representa mais de 50% do peso do fruto, pode causar uma diminuição no rendimento de compostos fenólicos se fizer parte do peso da amostra durante a extração. Nesse sentido, a polpa possui maior valor industrial para o desenvolvimento de produtos como doces e sorvetes, enquanto os resíduos podem ser aproveitados para obtenção de fitoquímicos.

Compostos fenólicos apresentam em sua estrutura pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila ligados e podem ser divididos em flavonoides e não flavonoides (QUIDEAU et al., 2011). Suas principais classes incluem ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos e taninos, todos com alta capacidade redox, sendo importantes antioxidantes capazes de atuar como doadores de hidrogênio, agentes redutores e sequestrantes de oxigênio singlete no organismo (KELLY; KELLY; O'MAHONY, 2019).

Os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois subgrupos de acordo com sua estrutura: os ácidos hidroxibenzóicos e os hidroxicinâmicos (MARTINS et al., 2011). O ácido gálico, classificado como ácido hidroxibenzóico, foi identificado no extrato aquoso da folha da gabiroba por Klafke et al., (2016) na concentração de 30,53 mg/g e Pastori et al., (2013) na concentração de 31,9 mg/g. Dentre os ácidos hidroxicinâmicos, foram encontrados ácido cafeico e ácido clorogênico (10,4-19,26 mg/g) (KLAFKE et al., 2016; PASTORI et al., 2013; SANT'ANNA et al., 2017). Além desses, os ácidos elágico e rosmarínico também foram identificados no extrato aquoso das folhas (SOUSA et al., 2019).

Os flavonoides constituem o maior grupo de fenólicos vegetais, respondendo por mais da metade dos oito mil compostos fenólicos de ocorrência natural. As variações nos padrões de substituição do anel C na estrutura desses compostos resultam nas principais classes de flavonoides, ou seja, flavonóis, flavonas, flavanonas, isoflavonas e antocianinas (MARTINS et al., 2011; TSAO, 2010). Os extratos de folhas da gabirobeira contêm flavonoides como rutina (41,3-48,2 mg/g) e quercetina (18,53-29,7 mg/g) (flavonóis) em concentrações mais elevadas e kaempferol (9,04 mg/g) em concentrações mais baixas (KLAFKE et al., 2016; PASTORI et al., 2013). Flavonoides da classe das chalconas também foram identificados, sendo eles 2',4'-dihidroxi-5'-metil-6'-metoxichalcona; 2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetil-6'-metoxichalcona; 2'-hidroxi-3'-metil-4',6'-dimetoxichalcona; 2',6'-dihidroxi-3'-metil-4'-metoxichalcona; 5-hidroxi-7-metoxi-8-metilflavanona; e 7-hidroxi-5-metoxi-6-metilflavanona (SALMAZZO et al., 2019).

Alguns estudos demonstraram a correlação entre ácidos fenólicos e flavonoides com atividades anti-inflamatórias e antioxidantes (KLAFKE et al., 2016). Quando comparada a outras frutas nativas, a gabirobeira apresentou maiores valores de capacidade antioxidante determinados pelo método ABTS: a gabiroba possui 507 µM TE/g, aproximadamente duas vezes maior que os valores da uvaia (336 µmol TE/g) e

da goiaba amarela (242  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (PEREIRA et al., 2012). Além disso, o extrato da folha aumentou a atividade da catalase, uma enzima envolvida na proteção celular contra o dano oxidativo por espécies reativas de oxigênio (SOUSA et al., 2019). Humanos tratados com folhas de gabirobeira encapsuladas, demonstraram uma redução significativa do estresse oxidativo do plasma (VIECILI et al., 2014). Um estudo *in vivo* observou que o tratamento por 5 dias com extrato aquoso de folhas tem efeito anti-inflamatório em camundongos hipercolesterolêmicos, com resultados melhores do que os obtidos com o ácido acetil salicílico (AAS). Os níveis de citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$  diminuíram no grupo tratado com gabiropa em comparação aos grupos controle e com AAS (KLAFKE et al., 2016).

#### 2.4.2. Carotenoides

Os carotenoides são os tetraterpenoides mais comuns na natureza e são alvos frequentes de estudos devido ao seu potencial antioxidante, mas principalmente por ser precursor da vitamina A (PRESTES et al., 2021). São pigmentos lipossolúveis responsáveis pelas cores laranja, vermelha e amarela encontrados em plantas, animais e microrganismos (RODRIGUES et al., 2012). Os carotenoides identificados na gabiropa são apresentados na TABELA 4.

TABELA 4 – COMPOSIÇÃO DE CAROTENOIDES NOS FRUTOS DA GABIROBA.

Compostos ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ )	Concentrações		
	Pereira et al. (2012)	Santos et al. (2013)	Schmidt et al. (2019)
Carotenoides totais	306	-	207
$\beta$ -caroteno	34,3	123	27,8
$\beta$ -caroteno 5,6-epóxido	8,49	-	-
13-cis- $\beta$ -caroteno	5,86	-	-
9-cis- $\beta$ -caroteno	4,75	-	-
$\alpha$ - caroteno	16,6	55,6	2,6
Licopeno	-	0,91	8,3
Luteína	81,9	14,2	100
Zeaxantina	32,4	-	8,9
$\beta$ -criptoxantina	121	93,1	227
Violaxantina	-	2,84	-

Existem mais de 600 carotenoides com variantes estruturais naturais que são divididos em carotenos e xantofilas (BOLHASSANI et al., 2017). Carotenoides pertencentes a ambas as classes foram identificados na gabiropa. As xantofilas carregam átomos de oxigênio em sua cadeia, incluindo grupos polares, como

hidroxila, epóxi e cetona. Foram encontradas na gabirola as xantofilas luteína, zeaxantina, criptoxantina,  $\beta$ -criptoxantina e violaxantina. Já os carotenos são compostos de hidrocarbonetos sem oxigênio, sendo encontrados na gabirola o  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno e licopeno (NERI-NUMA et al., 2020; RODRIGUES et al., 2012).

A gabirola é fonte de carotenoides e o perfil desses compostos é semelhante entre frutos coletados em diferentes regiões com os principais compostos sendo  $\beta$ -criptoxantina, luteína,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno (PEREIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2013; SCHMIDT et al., 2019), este último representando mais de 40% do conteúdo total de carotenoides (SANTOS et al., 2012b). O conteúdo de carotenoides que permanecem nas geleias após a produção de frutas é mantido em até 30% da concentração inicial (RAPHAELLI et al., 2021).

O elemento estrutural “central” dos carotenoides é uma estrutura de polieno que consiste em uma série de ligações duplas conjugadas. Por exemplo, o licopeno contém 11 ligações duplas conjugadas, que são acessíveis à clivagem oxidativa (SHARONI et al., 2012). Esse recurso particular é o principal responsável por suas propriedades de pigmentação e pela capacidade de muitos desses compostos interagirem com os radicais livres e o oxigênio singlete e, portanto, agirem como antioxidantes eficazes (ERDOĞAN et al., 2015; YOUNG; LOWE, 2018).

Os carotenoides mostraram correlação significativa com a atividade antioxidante dos extratos das sementes de *C. xanthocarpa*, que também apresentaram atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* (CAPELETTO et al., 2016). Carotenoides como o  $\beta$ -caroteno e o licopeno, encontrados na gabirola, exercem funções antioxidantes nas fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas das lipoproteínas (PEREIRA et al., 2012).

De um ponto de vista comercial e industrial, os carotenoides têm sido amplamente aplicados nos campos alimentício, cosmético e farmacêutico. Vários carotenoides, incluindo  $\beta$ -caroteno, luteína, zeaxantina, licopeno, astaxantina e cantaxantina são produzidos em escala industrial e estão disponíveis em alimentos fortificados ou como suplementos. Os carotenoides também são usados como corantes em alimentos e bebidas, antioxidantes, nutracêuticos, precursores de compostos aromáticos e agentes bioativos em produtos dermatológicos (EGGERSDORFER; WYSS, 2018; NERI-NUMA et al., 2020). Dessa forma, por ser fonte rica de carotenoides, a gabirola e seus resíduos podem ser aproveitados para

obtenção de corantes ou moléculas com propriedades farmacológicas a serem utilizadas no desenvolvimento de novos produtos.

### 2.4.3. Óleos

Os óleos vegetais e essenciais são matérias-primas muito importantes nas indústrias alimentar, cosmética e farmacêutica. Os óleos vegetais são compostos fundamentalmente por triglicerídeos (95-98%) e componentes minoritários como ácidos graxos livres, fitoesteróis, tocoferol, pigmentos e fosfolipídios (CHEN; MCCLEMENTS; DECKER, 2011; INDELICATO et al., 2017; JENTZSCH; CIOBOTĂ, 2014). Os óleos essenciais são compostos orgânicos voláteis, de baixo peso molecular extraídos de plantas aromáticas (KUMARI et al., 2014).

Diversos compostos voláteis, como ésteres, aldeídos, álcoois, terpenos e seus derivados estão envolvidos no sabor das frutas, que é a característica sensorial que desempenha um papel fundamental na aceitabilidade dos consumidores. Na maioria das plantas, os compostos voláteis concentram-se em maior quantidade nas folhas e nos troncos das árvores (cascas). As folhas e frutos da gabirobeira são altamente aromáticos e seus compostos voláteis podem desencadear efeitos farmacológicos no organismo humano. Da gabiroba foram obtidos óleos essenciais encontrando compostos voláteis pertencentes as classes dos terpenos, ésteres, álcoois, aldeídos, ácidos, furanos e cetonas (FERREIRA et al., 2016b; RAPHAELLI et al., 2021).

Cardoso et al., (2009) mostraram que o rendimento de óleo essencial de frutos frescos da gabirobeira é de 0,12% e identificaram 37 componentes, dos quais 10,8% eram monoterpenos e 89,2% sesquiterpenos. Os principais constituintes do óleo da fruta foram criptomeridiol (19,2%),  $\beta$ -eudesmol (6,1%), globulol (5,2%),  $\alpha$ -eudesmol (4,9%) e (E)-cariofileno (4,8%). No entanto, outros estudos apontam os monoterpenos como constituintes principais, principalmente  $\alpha$ -pineno (15,0%), o-cimeno (10,8%),  $\beta$ -pineno e limoneno (5,1%) (VALLILO et al., 2008).

A fração monoterpênica do óleo da gabiroba foi caracterizada principalmente por limoneno (10,9%) e na fração sesquiterpênica,  $\beta$ -cariofileno (21,8%) foi o composto majoritário (MARIN et al., 2008). Os compostos monoterpênicos geralmente desempenham um papel importante no sabor da fruta. Ferreira et al., (2016) encontraram 18 monoterpenos no óleo essencial obtido da polpa da gabiroba, no qual

cerca 12,5% do total dos compostos, o linalol e o  $\alpha$ -terpineol foram os mais abundantes.

Em outro estudo, os principais compostos encontrados no óleo essencial da fruta seca foram cinco hidrocarbonetos sesquiterpênicos: cariofileno (E) (10–7%), humuleno (4–3%),  $\beta$ -sabineno (8–6%),  $\alpha$ -sabineno (8–7%),  $\delta$ -cadineno (5–4%), selina-3,7(11)-dieno (4–3%) e germacreno B (5–4%); e três sesquiterpenos oxigenados:  $\gamma$ -eudesmol (5%) e  $\alpha$ - e  $\beta$ -eudesmol (26–22%) (CZAIKOSKI et al., 2015).

O rendimento do óleo essencial das folhas de *C. xanthocarpa* foi de 0,2%. Os principais compostos obtidos foram  $\beta$ -cariofileno (8,87%), viridiflorol (6,40%), espatulenol (5,16%), d-cadineno (4,92%), linalol (4,46%) e  $\alpha$ -cadinol (PASTORI et al., 2013). O óleo essencial das flores apresentou rendimento de 0,1%, no qual foram identificados 34 compostos, sendo os majoritários ledol (15,6%), globulol (12,8%),  $\alpha$ -cadinol (6,6%) e  $\alpha$ -muurolol (6,3%) (CARDOSO; KATAOKA; RÉ-POPPI, 2010).

Os compostos comumente encontrados por diversos autores em óleos essenciais da gabioba foram limoneno, linalool,  $\beta$ -carofileno,  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -eudesmol, cadinol, humuleno, globulol e guaiol (CAPELETTO et al., 2016; CARDOSO et al., 2009; CARDOSO; KATAOKA; RÉ-POPPI, 2010; CZAIKOSKI et al., 2015; MARIN et al., 2008; REGGINATO et al., 2021).

Quanto ao óleo vegetal da gabioba, este permanece pouco explorado quanto a sua composição e propriedades. As sementes da gabioba foram utilizadas para extração do óleo, que se apresentou como uma fonte de ácidos graxos insaturados (SANTOS et al., 2012a). No trabalho de Santos et al. (2012a) os ácidos graxos monoinsaturados compõem 62,42% do óleo da semente da gabioba, enquanto os ácidos graxos saturados e poli-insaturados representam 17,62% e 15,31% da composição, respectivamente. O conteúdo total de ácidos graxos insaturados foi de 77,73%, sendo os constituintes majoritários o ácido oleico (60,84%) e linoleico (14,15%) (SANTOS et al., 2012a). O ácido palmítico foi o ácido graxo saturado presente em maior quantidade (13,91%). Além desses, também foram encontrados em quantidades menores os ácidos graxos margárico (0,08%), esteárico (2,67%), palmitoleico (1,16%), heptadecenóico (0,11%), linolênico (0,53%), araquídico (0,51%), araquidônico (0,63%), eicosanóico (0,32%), behênico (0,33%), lignocérico (0,13%). Este foi o único trabalho encontrado na literatura até o momento referente a extração de óleo vegetal da gabioba.

Os óleos vegetais são componentes importantes da dieta humana porque são fontes de ácidos graxos essenciais, como o ácido oleico, linoleico e linolênico (SANTOS et al., 2018). Tocoferóis e fitoesteróis são constituintes nutricionais significativos, que são rotineiramente determinados em óleos vegetais (ZHANG et al., 2019a). Foi demonstrado que eles exibem inúmeras propriedades benéficas à saúde, incluindo proteção contra certos tipos de câncer, doenças oxidativas e inflamatórias e papel importante na prevenção de doenças associadas ao envelhecimento, doenças cardiovasculares e doença de Alzheimer (FLAKELAR et al., 2017; ZHANG et al., 2019a).

Óleos de frutas têm sido propostos como agente antimicrobianos poderosos. Evidências sugerem que os ácidos graxos atuam como detergentes na estrutura anfipática de uma membrana celular bacteriana, aumentando a permeabilidade celular e prejudicando processos essenciais como a geração de energia por fosforilação oxidativa (PEREIRA et al., 2018b). O óleo de buriti aumentou a taxa de fagocitose celular na *E. coli* enteropatogênica e seu índice microbicida, não apresentou toxicidade aos fagócitos MN do sangue humano. No que se refere ao perfil do ácido graxo, o óleo é composto principalmente por ácido oleico (72,23%) e ácido palmítico (22,18%). Além disso, o óleo de buriti apresentou alto teor de carotenoides (760,5 µg de β-caroteno/g de óleo) (CRUZ et al., 2020).

A incorporação de resíduos na produção de óleos especiais de alta qualidade e nas indústrias alimentar, farmacêutica, química ou cosmética pode melhorar a disponibilidade do produto, a fim de cobrir as necessidades emergentes de novas fontes de óleo. Por esse motivo, estudos buscam matérias-primas que forneçam óleos com perfil lipídico semelhante aos óleos tradicionalmente consumidos, e que também sejam fontes alternativas de fitoesteróis e compostos fenólicos (SILVA; JORGE, 2014).

Devido ao grande número e variedade de compostos bioativos presentes na gabirobeira, esta planta apresenta alto potencial para utilização na preparação de formulações para as indústrias alimentícia e farmacêutica. No entanto, mais estudos são necessários para elucidar e agregar dados referentes a obtenção desses compostos bem como a utilização desses extratos para aplicações industriais.

## 2.5. PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA GABIROBA

A extração sólido-líquido (ESL) é um método eficiente, tradicionalmente utilizada pelas indústrias farmacêuticas e de alimentos, para a obtenção de componentes bioativos de plantas medicinais naturais, onde a difusão da molécula bioativa é considerada a chave para a eficiência do processo de extração (ZHANG et al., 2019b).

As técnicas de ESL podem ser divididas em convencionais e não convencionais. Dentre as técnicas convencionais destacam-se a maceração, Soxhlet, infusão. No entanto essas técnicas envolvem longos períodos de extração, alto custo devido a quantidade de solvente requerida, baixo rendimento devido a necessidade de temperaturas elevadas e consequente degradação térmica dos compostos, além da utilização de solventes inflamáveis (ZAINAL-ABIDIN et al., 2017). Para minimizar esses problemas, técnicas de extração alternativas não convencionais foram desenvolvidas, entre elas encontram-se a extração com fluido supercrítico (SFE, do inglês “Supercritical Fluid Extraction”), extração assistida por micro-ondas (MAE, do inglês “Microwave assisted extraction”), extração assistida por ultrassom (UAE, do inglês “Ultrasound-Assisted Extraction”) e extração assistida por enzima (EAE, do inglês “Enzyme Assisted Extraction”) (AZMIR et al., 2013; PUTNIK et al., 2019; ZHANG; LIN; YE, 2018).

Além das técnicas, outro fator importante no processo de extração é a escolha do solvente adequado que pode afetar diretamente sua eficiência. Parâmetros como tempo e temperatura de extração, proporção de solvente/amostra, matriz, tamanho da molécula de interesse, solubilidade e polaridade são fatores limitantes durante a escolha do solvente (GARCÍA et al., 2016). Solventes convencionais como a água e solventes orgânicos como hexano, benzeno, metanol, clorofórmio, éter de petróleo e acetona são amplamente utilizados na extração de compostos bioativos (BENVENUTTI; ZIELINSKI; FERREIRA, 2019).

Uma variedade de técnicas e solventes foram empregados na obtenção de compostos bioativos das folhas, polpa, sementes, fruto inteiro e flores da gabirobeira como mostra a TABELA 5.

TABELA 5 – TÉCNICAS E SOLVENTES EMPREGADOS NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA *Campomanesia xanthocarpa*.

Solvente	Método	Análises	Referência
Água	Infusão	Potencial hipoglicêmico; Redução do ganho de peso;	(BIAVATTI et al., 2004)
		Obtenção de extrato aquoso e óleo essencial; Composição química; Caracterização de compostos voláteis; Efeitos antiproliferativos e genotóxicos em células vegetais;	(PASTORI et al., 2013)
		Avaliação da composição química; Efeito hipotensivo dependente da dose;	(SANT'ANNA et al., 2017)
	Decocção	Efeito hipoglicêmicos;	(VINAGRE et al., 2010)
		Composição química; Atividade antioxidante; Efeito anti-hiperlipidêmico;	(SOUSA et al., 2019)
	Agitação	Composição química; Atividade antioxidante e anti-inflamatória;	(KLAFKE et al., 2016)
Etanol/água	Percolação	Composição fitoquímica; Toxicidade e atividade anti-ulcerogênica em ratos;	(MARKMAN; BACCHI; KATO, 2004)
		Composição de fenólicos totais e flavonoides; Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória;	(LEANDRO et al., 2021)
	Maceração	Composição química; Toxicidade e efeito anti-inflamatório;	(SILVA et al., 2016)
		Parâmetros relacionados a obesidade e disfunções metabólicas;	(CARDOZO et al., 2020)
Etanol	UAE	Quantificação de fenólicos totais e flavonoides; Avaliação do efeito fotoprotetor;	(CATELAN et al., 2019)
<b>Polpa</b>			
Água	Extração por refluxo	Extração de galactoglucomanana; Composição de monossacarídeos; Características estruturais;	(BARBIERI et al., 2017)
		Extração de pectinas; Composição de monossacarídeos; Características estruturais;	(BARBIERI et al., 2019)

		Comportamento reológico;	
		Extração de pectinas; Composição de monossacarídeos; Características estruturais; Citotoxicidade e metabolismo oxidativo de células tumorais;	(AMARAL et al., 2019)
	Extração subcrítica	Extração de pectinas; Avaliação dos parâmetros de extração (pressão, temperatura e vazão); Composição de monossacarídeos;	(DIAS et al., 2020)
Metanol/água	Agitação magnética	Composição química; Atividade antioxidante;	(ALVES et al., 2017)
<b>Sementes</b>			
Hexano, clorofórmio, acetato de etila e álcool	Soxhlet	Quantificação de fenólicos totais, flavonoides e carotenoides; Potencial antioxidante; Obtenção do óleo e perfil de ácido graxo;	(SANTOS et al., 2012a)
CO <sub>2</sub> e butano	Extração supercrítica	Caracterização fitoquímica; Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana;	(CAPELETTO et al., 2016)
		Caracterização química; Potencial antidiabético e hipolipidêmico;	(REGGINATO et al., 2021)
<b>Fruto inteiro</b>			
Água	Hidrodestilação	Isolamento dos óleos essenciais; Caracterização de compostos voláteis; Potencial antioxidante;	(MARIN et al., 2008)
Etanol	Extração a frio	Composição química; Potencial antimicrobiano e antidiarreico;	(SOUZA-MOREIRA et al., 2011)
CO <sub>2</sub>	Extração supercrítica	Caracterização de compostos voláteis; Potencial antioxidante e antimicrobiano;	(CZAIKOSKI et al., 2015)
Metanol, ácido acético e acetonitrila	UAE	Perfil de compostos fenólicos; Potencial antioxidante e antidiabético;	(ARCARI et al., 2020)
Metanol e acetona	Agitação	Composição química; Perfil de carotenoides; Quantificação de vitamina A e C;	(PEREIRA et al., 2012)
Acetona, éter etílico e metanol	Extração exaustiva	Perfil de carotenoides e antocianinas; Potencial antioxidante;	(SCHMIDT et al., 2019)
Hexano e etanol	Maceração	Composição química; Potencial antioxidante; Efeitos citotóxicos em células tumorais;	(SALMAZZO et al., 2019)
<b>Flores</b>			
Água	Hidrodestilação	Obtenção de óleo essencial; Identificação de compostos voláteis;	(CARDOSO; KATAOKA; RÉ-POPPI, 2010)

Na maior parte dos estudos, a extração com a *C. xanthocarpa* foi realizada com solventes orgânicos. A água e o etanol foram os principais solventes utilizados para a extração dos compostos bioativos (BARBIERI et al., 2017; BIAVATTI et al., 2004; KLAFKE et al., 2016; MARIN et al., 2008). Os métodos de extração em sua maioria foram técnicas convencionais, como a maceração, infusão e agitação (BIAVATTI et al., 2004; PEREIRA et al., 2012; SALMAZZO et al., 2019), embora métodos mais sofisticados tenham sido empregados como a extração supercrítica e assistida por ultrassom (ARCARI et al., 2020; CAPELETTO et al., 2016; CATELAN et al., 2019; CZAIKOSKI et al., 2015).

O óleo vegetal das sementes da gabioba foi extraído utilizando hexano como solvente e a técnica de Soxhlet, tradicionalmente utilizada para obtenção de óleos (SANTOS et al., 2012a). Vários são os fatores que influenciam a composição química e consequentemente as propriedades funcionais dos óleos, como o período de colheita, as condições climáticas, a região de cultivo e o método de extração (SANTOS et al., 2018). As técnicas mais importantes para extração de óleo vegetal são a extração por solvente e a prensagem mecânica (DELFAN-HOSSEINI et al., 2017), no entanto, extração de óleo usando solventes orgânicos resulta em um rendimento maior em comparação com a prensagem mecânica (SANTOS et al., 2018).

A obtenção da fração lipofílica de matrizes vegetais por métodos tradicionais, como o Soxhlet e a maceração, apresenta altos rendimentos resultantes de processos de extração mais longos. No entanto, requerem grandes quantidades de solventes e a exposição do material a altas temperaturas por um longo período de tempo pode resultar na degradação de uma variedade de compostos, principalmente ácidos graxos insaturados. Assim, técnicas modernas de extração como UAE, são alternativas promissoras na extração de compostos de fontes naturais (VIEIRA et al., 2017). A UAE utiliza as forças de cavitação produzidas por ondas acústicas para decompor as paredes celulares, liberando assim os componentes intracelulares no solvente (TAN et al., 2018). Esta técnica não requer altas temperaturas e reduz o tempo de extração preservando os compostos presentes na amostra.

Alguns solventes orgânicos, como o etanol, que tem um baixo ponto de ebulição, foram propostos como solventes seguros para serem utilizados na extração de componentes bioativos da gabioba, apresentando eficiência e facilidade de uso. Contudo, esses compostos não são totalmente eficientes para solubilizar moléculas com baixa polaridade (GARCÍA et al., 2016). Além disso, o álcool etílico é um dos

solventes mais utilizados por pesquisadores, principalmente devido à sua miscibilidade em água e em diferentes solventes orgânicos, como propanona, éter etílico, glicerol e tolueno. A água é um dos solventes mais utilizado devido sua biocompatibilidade, mas só é efetiva na extração de compostos bioativos polares e hidrofílicos (ZAINAL-ABIDIN et al., 2017). Logo, a mistura de solventes pode resultar em uma maior eficiência na extração de biomoléculas, o que está relacionado a alteração da polaridade do meio.

## 2.6. CONSIDERAÇÕES SOBRE OS ESTADO DA ARTE

As informações descritas na revisão bibliográfica tiveram como objetivo detalhar e contextualizar a matriz utilizada para a elaboração desse trabalho. Sua composição química e formas de extração foram detalhadas. Os compostos encontrados nas diversas partes da *C. xanthocarpa* são reconhecidos por suas propriedades antioxidantes, antidiabéticas, antimicrobianas, antitumorais e anti-inflamatórias. Muitas das propriedades observadas, justificam a utilização da infusão das folhas na medicina popular. Diante do exposto, demonstrou-se que a gabiroba possui grande potencial de estudo para maior exploração de suas propriedades pela indústria farmacêutica e alimentícia.

A maior parte dos trabalhos disponíveis na literatura concentraram-se na extração de compostos bioativos provenientes das folhas, bem como exploração das propriedades terapêuticas desses extratos. A polpa foi utilizada na extração de polissacarídeos, produção de geleia e obtenção de filmes biodegradáveis. Poucos estudos se dedicaram ao aproveitamento completo da fruta e não foram encontrados dados quanto a utilização do resíduo para extração de compostos bioativos e obtenção da fração lipídica. Apenas um estudo sobre a obtenção do óleo da semente da gabiroba está disponível na literatura.

Os solventes e técnicas de extração utilizados para obtenção de compostos de interesse, são fatores relevantes. Na seção onde é descrita os processos de extração de compostos bioativos da gabiroba, observa-se que uma variedade de solventes com polaridades diferentes foi empregada nos processos de extração. De maneira semelhante, diversas técnicas, desde as mais simples até mais sofisticadas, foram utilizadas. As indústrias, cada vez mais, buscam por formas alternativas, rápidas, econômicas e viáveis para a obtenção de produtos. Técnicas de extração

tradicionalmente utilizadas, geralmente requerem grandes quantidades de solventes e longos períodos, características que podem inviabilizar o processo em escala industrial. Essas informações, justificam o estudo e desenvolvimento de formas de obtenção desses compostos que apresentem altos rendimentos e possibilitem a aplicação em diferentes áreas.

A proposta do presente trabalho inclui o aproveitamento de resíduos para obtenção de extratos, otimização dos processos de extração com o emprego de técnicas e solventes que preservem as moléculas de interesse e a avaliação das propriedades biológicas desses extratos com a finalidade de verificar sua compatibilidade para aplicações industriais. Adicionalmente, estudos sobre a gabioba trazem visibilidade quanto ao potencial dos frutos e valorização da espécie, incentivando seu cultivo e comercialização.

**CAPÍTULO III**  
*Material e Métodos*

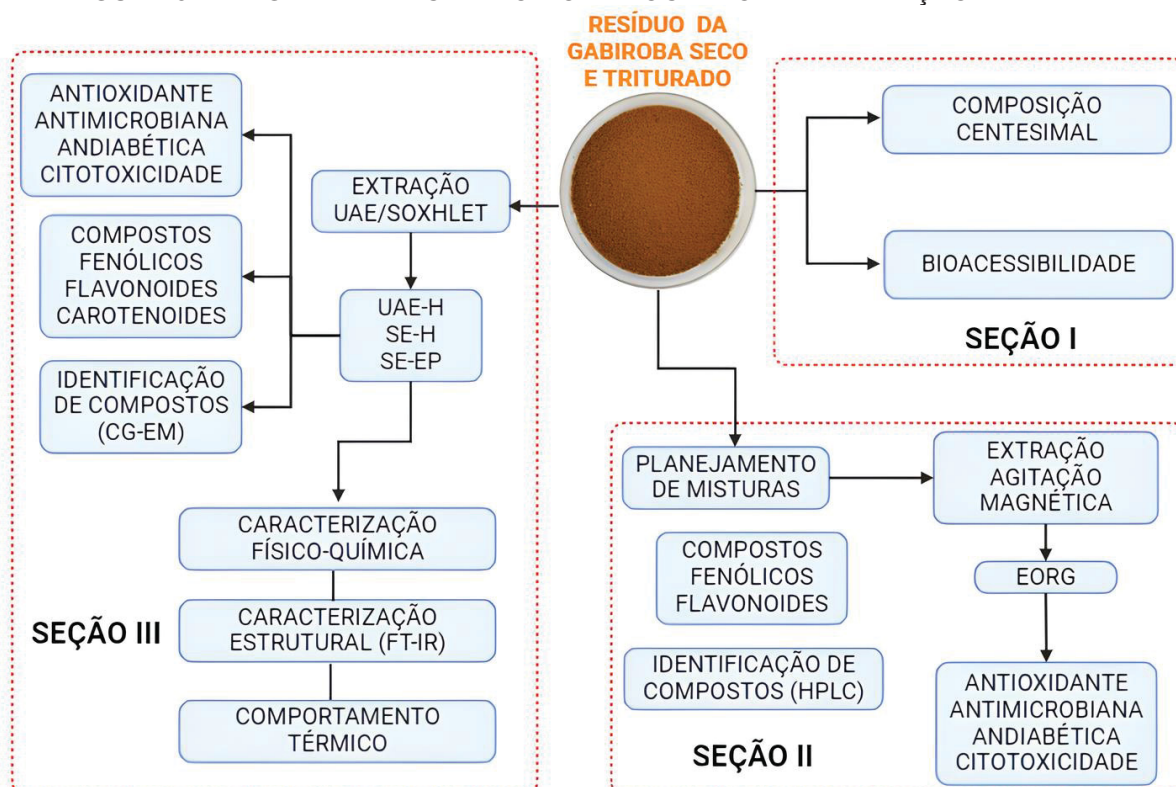
---

## CAPÍTULO III – MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1. RESUMO GRÁFICO DO TRABALHO

A FIGURA 3 traz uma representação esquemática de como está dividido o trabalho. O resíduo do despulpamento da gabioba foi caracterizado quanto sua composição centesimal e bioacessibilidade dos compostos bioativos e capacidade antioxidante, resultados apresentados na Seção I. Posteriormente foi utilizado como matéria-prima nos processos de extração. As extrações foram realizadas com diferentes técnicas e solventes de diferentes polaridades. A extração com agitação magnética foi empregada para avaliar o efeito dos solventes água, etanol e acetona na obtenção de compostos bioativos do resíduo. O sistema de extração foi otimizado utilizando a metodologia de superfície de resposta e ao final obteve-se o extrato otimizado do resíduo da gabioba (EORG), avaliado quanto a sua composição química e propriedades biológicas. Esses resultados estão apresentados na Seção II.

FIGURA 3 – DIAGRAMA DESCRITIVO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISES.



A extração assistida por ultrassom e Soxhlet utilizando hexano e éter de petróleo como solvente foram empregadas para obtenção das frações lipídicas do re-

síduo da gabioba. A partir dessas extrações foram obtidos os óleos UAE-H (extração assistida por ultrassom com hexano), SE-H (extração em Soxhlet com hexano) e SE-EP (extração em Soxhlet com éter de petróleo). Esses óleos foram caracterizados quanto a composição química, propriedades biológicas, parâmetros físico-químicos, estruturais e comportamento térmico, resultados disponíveis na Seção III.

### 3.2. COLETA DAS FRUTAS, PREPARO E OBTENÇÃO DO RESÍDUO DA GABIROBA

Frutos maduros de gabioba (*Campomanesia xanthocarpa*) foram coletados em Irati (S25°27'56"; W50°37'51"), Paraná, Brasil entre novembro de 2021 e janeiro de 2022, fornecidos pela Embrapa Florestas (FIGURA 4).

FIGURA 4 – FRUTOS, POLPA E RESÍDUO DA GABIROBA (*C. xanthocarpa*).



1 – Frutos maduros; 2 – Interior dos frutos; 3 – Polpa; 4 – Resíduo *in natura*; 5 – Resíduo seco; 6 – Farinha do resíduo.

As amostras foram lavadas, sanitizadas e armazenadas a -18 °C para transporte e proteção contra a ação de microrganismos e reações bioquímicas. Para obtenção do resíduo, os frutos foram descongelados e submetidos ao processo de despulpamento em despulpador (Braesi, DES-20). O rendimento resultante deste procedimento foi de 31% de resíduo e 69% de polpa. O resíduo foi coletado, seco a

40 °C em estufa com circulação de ar por 48 h e transformado em farinha utilizando um moedor de café (Cadence, MDR302). O material que atravessou a peneira Tyler série 20 mesh, partículas com diâmetro inferior a 0,9 mm, foi coletado e armazenado sob vácuo em temperatura ambiente e protegido da luz.

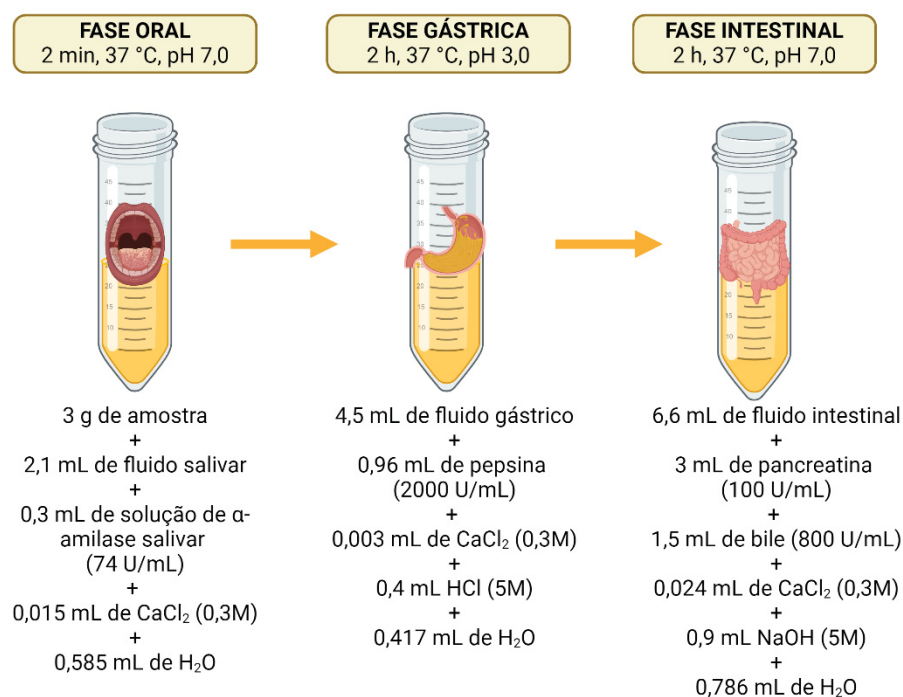
### 3.3. CARACTERIZAÇÃO DO RESÍDUO

As análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata a partir dos protocolos estabelecidos pela AOAC (2012). O teor de umidade foi obtido por dessecação em estufa a 105 °C até massa constante (AOAC 926.12); proteínas totais foram realizadas pelo método de Kjeldahl, com fator de conversão de nitrogênio para proteína equivalente a 6,25; resíduos minerais fixos foram obtidos por incineração em mufla a 550°C (AOAC 945.46); e fibras alimentares, através do método enzimático-gravimétrico (AOAC 991.43). O teor de lipídios foi avaliado por extração a frio, baseada no método de Bligh e Dyer (1959). O teor de carboidratos totais foi calculado pela diferença de massa.

### 3.4. DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

O ensaio *in vitro* do trato gastrointestinal foi realizado em triplicata de acordo com o protocolo Infogest (BRODKORB et al., 2019), com adaptações (FIGURA 5). As três misturas digestivas foram incubadas em banho-maria e agitadas a uma taxa constante (85 rpm) para via oral, gástrica e intestinal. Os brancos do procedimento foram feitos usando água destilada e todas as enzimas digestivas nas mesmas condições do material vegetal. Ao término, a atividade enzimática foi cessada com banho de gelo, seguido do congelamento a -20 °C para liofilização.

Para a avaliação da bioacessibilidade 0,5 g das amostras digeridas foram misturadas com 5 mL de metanol 80%. A solução foi homogeneizada em vórtex e submetida ao banho ultrassônico em temperatura ambiente por 10 minutos, seguida de centrifugação. O sobrenadante foi coletado e a fase sólida foi submetida a uma segunda extração similar. Ao final, os sobrenadantes foram combinados para realização das análises dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante, descritas a partir da seção 3.6.1 com os volumes adaptados para microplacas.

FIGURA 5 – VISÃO GERAL DO MÉTODO DE DIGESTÃO *IN VITRO* SIMULADO.

### 3.5. PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO

#### 3.5.1. Obtenção da fração hidrofílica por agitação magnética – Design Experimental

Um planejamento experimental de mistura simplex centroide aumentado, com três pontos internos, foi utilizado para avaliar os efeitos isolados, misturas binárias e ternárias dos solventes. Foi avaliado o efeito da combinação de três solventes com diferentes polaridades, conforme TABELA 6.

TABELA 6 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL SIMPLEX CENTROIDE PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS DO RESÍDUO DA GABIROBA.

<b>Ensaio</b>	<b>Água (A)</b>	<b>Etanol (B)</b>	<b>Acetona(C)</b>
1	1 (150)	0 (0)	0 (0)
2	0 (0)	1 (150)	0 (0)
3	0 (0)	0 (0)	1 (150)
4	0,5 (75)	0,5 (75)	0 (0)
5	0,5 (75)	0 (0)	0,5 (75)
6	0 (0)	0,5 (75)	0,5 (75)
7	0,333 (50)	0,333 (50)	0,334 (50)
8	0,666 (100)	0,167 (25)	0,167 (25)
9	0,167 (25)	0,66 (100)	0,167 (25)
10	0,167 (25)	0,167 (25)	0,666 (100)

Valores entre parênteses representa o volume do solvente

As extrações foram realizadas na proporção de 1:20 (m/v, amostra/solvente) utilizando 7,5 g de amostra e 150 mL de solvente, totalizando 10 extrações (FIGURA 6). Solvente e amostra foram misturados em célula encamisada e mantidos a temperatura de 40°C sob agitação contínua por 45 min. Após esse período, o extrato bruto foi filtrado e transferido para o evaporador rotativo para obtenção do extrato aquoso. Em seguida, as amostras foram congeladas e submetidas ao processo de liofilização. No momento do uso, os extratos secos foram ressuspensos em água (FIDELIS et al., 2020b).

FIGURA 6 – EXTRATOS OBTIDOS DA FARINHA DO RESÍDUO DA GABIROBA A PARTIR DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.



#### 3.5.1.1. Otimização

A metodologia de superfície de resposta (MSR) foi utilizada para avaliar o efeito da combinação dos três solventes (água, etanol e acetona) na extração de compostos fenólicos e determinação da capacidade antioxidante *in vitro* do resíduo da gabiropa, conforme descrito por (FIDELIS et al., 2020b; GRANATO et al., 2014). Os resultados obtidos foram avaliados por regressão linear múltipla, a partir do delineamento experimental e MSR, de modo a estabelecer uma relação matemática entre os fatores (tipo de solvente) e as respostas.

Para aplicar a MSR, diferenças estatísticas significativas foram investigadas por análise de variância unidirecional (ANOVA). Para tanto, a normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade pelo teste de Levene. As diferenças entre as médias foram analisadas pelo teste de comparação múltipla de Tukey considerando  $p < 0,05$ . Quando as diferenças entre as amostras foram verificadas por ANOVA ( $p < 0,05$ ), a MSR foi aplicada para modelar as medidas

analíticas em função dos fatores (tipos de solvente). A equação do modelo de regressão de misturas de três componentes para estimar os coeficientes é apresentada na Equação 1:

$$Y = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3 \quad (1)$$

onde  $y$  representa a função resposta prevista,  $b_1$ ,  $b_2$  e  $b_3$  são os coeficientes de regressão para efeitos lineares,  $b_{12}$ ,  $b_{13}$  e  $b_{23}$  representam os coeficientes de interação binária e  $b_{123}$  é o coeficiente de regressão ternário. Da mesma forma,  $x_1$ ,  $x_2$  e  $x_3$  representam a proporção dos três solventes de extração em estudo. Os modelos matemáticos propostos incluíram apenas os coeficientes de regressão significativos ( $p < 0,05$ ). A qualidade estatística dos modelos foi avaliada pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ), ajustado  $R^2$ . Para todos os modelos de regressão, os resíduos foram examinados quanto a padrões óbvios (dados previstos versus dados experimentais) e testados quanto à normalidade usando o teste de Shapiro-Wilk. Utilizando MSR, modelos de regressão foram obtidos para descrever a capacidade antioxidante e os compostos fenólicos extraídos do resíduo da gabiroba em função dos solventes.

Um extrato otimizado foi obtido aplicando-se um conjunto de iterações utilizando a função de desejabilidade, para obtenção da melhor combinação de solventes que maximizasse a extração de compostos bioativos e a capacidade antioxidante (FIDELIS et al., 2020a). As mesmas condições experimentais descritas na seção 3.5.1 foram empregadas para a extração do resíduo da gabiroba utilizando o sistema de solvente otimizado. Após esse processo de extração obteve-se o extrato otimizado do resíduo da gabiroba (EORG). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica v.10.

### 3.5.2. Obtenção das frações lipídicas

#### 3.5.2.1. Extração por Soxhlet

Para cada extração, aproximadamente 20 g de resíduo de gabiroba seco e moído foi envolvido em um cartucho de papel filtro e inserido no aparato de extração

por Soxhlet. O balão foi preenchido com 150 mL de solvente (FIGURA 7) (hexano ou éter de petróleo) que foi submetido a refluxo em seu ponto de ebulição por um período de 9 horas. Após o período de extração, o solvente foi removido em evaporador rotativo a vácuo e os extratos colocados em estufa com circulação de ar para remoção do solvente residual. O rendimento de extração (%) foi calculado de acordo com a Equação 2:

$$\text{Rendimento de extração (\%)} = \left( \frac{\text{Massa do extrato}}{\text{Massa da matéria - prima}} \right) \times 100 \quad (2)$$

FIGURA 7 – PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO DO RESÍDUO DA GABIROBA POR SOXHLET (A) E FRAÇÕES LIPÍDICAS OBTIDAS (B).



### 3.5.2.2. Extração assistida por ultrassom

Foi utilizado um sistema de geração de ultrassom com sonda de alta intensidade de 130 W, 20 kHz (Sonics Vibra-Cell, VCX 130). Seu controlador de amplitude permitiu que as vibrações ultrassônicas na microponta da sonda fossem ajustadas em 100% da potência nominal pelo controlador de amplitude. A UAE utilizada neste estudo foi realizada de acordo com o método descrito na literatura com adaptações (BARRA et al., 2021; GOH et al., 2020). O procedimento foi realizado em frasco erlenmeyer contendo 20 g de amostra e 50 mL de hexano por 30 min, seguido de filtração. A sonda ultrassônica foi inserida diretamente na mistura com a ponta totalmente submersa pelo solvente. As ondas ultrassônicas foram definidas em ultra-

sonicação de 30 s com intervalos de 30 s. Um banho de gelo foi usado para evitar o superaquecimento da mistura. A amostra filtrada foi submetida a extração exaustiva usando mais 50 mL de solvente. Esse procedimento foi realizado três vezes totalizando 1 hora e 30 minutos de extração e as alíquotas foram coletadas no mesmo frasco. Após a extração, o solvente foi removido em evaporador rotativo a vácuo e o solvente residual removido em estufa com circulação de ar. O rendimento foi obtido de acordo com a Equação 2.

### 3.6. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS

Para determinar o teor de compostos bioativos e a capacidade antioxidante dos óleos (UAE-H, SE-H e SE-EP), extratos hidrofílicos e lipofílicos foram obtidos de cada amostra. Os extratos lipofílicos foram obtidos pela adição de 20 mL de acetona gelada a 1 g de óleo com agitação contínua em ultrassom por 10 min, seguido de filtração. Em seguida, foi realizada uma partição com éter de petróleo e água e o extrato etéreo foi utilizado para a análise (BRITO et al., 2022). Para obter os extratos hidrofílicos, extraiu-se 1 g de óleo com 5 mL de hexano. Em seguida, adicionaram-se 5 mL de metanol/água (60:40, v/v) e agitou-se a mistura vigorosamente durante 2 min. A fração hidrometanólica foi coletada para realizar as análises (NAKBI et al., 2010).

#### 3.6.1. Compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais (TPC) foi feita de acordo com o método colorimétrico adaptado de Singleton et al. (1999), baseado no reagente de Folin-Ciocalteu. Em tubos de ensaio foram misturados 1,68 mL de água destilada, 20 µL de extratos hidrofílicos dos óleos e 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu. Após 5 min, 100 µL de carbonato de sódio (20% p/v) foi adicionado a cada tubo, seguido de agitação. Os tubos foram então mantidos no escuro por 60 minutos à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) a 760 nm. Os dados foram comparados com uma curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico (GAE)/100 g de amostra.

### 3.6.2. Flavonoides totais

Os extratos hidrofílicos dos óleos também foram avaliados quanto ao teor de flavonoides totais de acordo com a metodologia proposta por Zhishen et al. (1999). A metodologia consiste em misturar de 50 µL de extrato hidrofílico do óleo e 450 µL de nitrato de sódio (5%). Após 5 minutos, adiciona-se 50 µL de solução de cloreto de alumínio (10% p/v) e após 5 minutos de incubação adiciona-se 450 µL de hidróxido de sódio (1 mol.L<sup>-1</sup>). Em seguida, a amostra é agitada e mantida sob proteção contra luz por 60 minutos e as leituras de absorbância foram feitas no comprimento de onda de 510 nm. A curva de calibração foi obtida utilizando a quercetina como solução padrão e os resultados foram expressos em mg de quercetina/100 g de amostra.

### 3.6.3. Carotenoides totais

Para a determinação dos carotenoides totais, a absorbância dos extratos lipofílicos dos óleos foi lida diretamente em espectrofotômetro a 450 nm, conforme método descrito por Rodriguez-Amaya (2001). A quantificação foi realizada de acordo com a Equação 3 utilizando o coeficiente de extinção molar de β-caroteno em éter de petróleo (2592 M/cm) e foi expressa em µg de β-caroteno/g de amostra.

$$Carotenoides = \left( \frac{Abs_{amostra} \times Volume \times 10000}{2592 \times Massa da amostra} \right) \quad (3)$$

### 3.6.4. Determinação da capacidade antioxidante in vitro

#### 3.6.4.1. Captura do radical livre DPPH

A capacidade de eliminação de radicais livres do DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazil) foi analisada de acordo com Brand-Williams et al. (1995). Resumidamente, 1,95 mL de solução de DPPH foram adicionados em tubos contendo 50 µL de extrato hidrofílico ou lipofílico dos óleos. A mistura foi agitada e mantida no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente. A absorbância foi medida usando um espectrofotômetro em um comprimento de onda de 517 nm. Os dados foram comparados com uma curva padrão de Trolox e os resultados expressos em mg equivalente de Trolox (TE)/g de amostra.

#### 3.6.4.2. Captura do radical livre ABTS

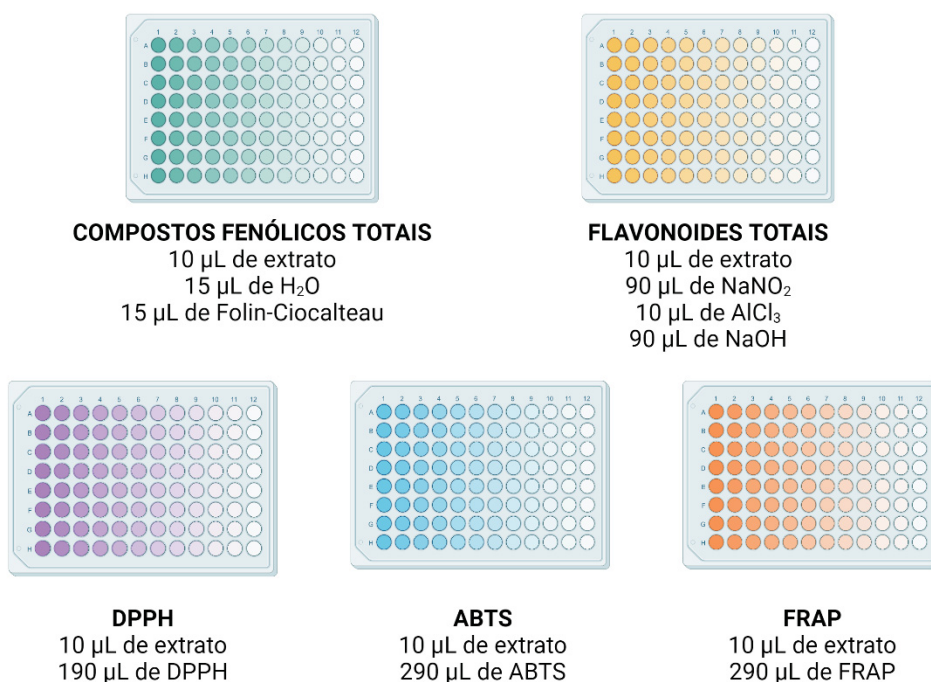
A capacidade antioxidante foi determinada a partir do sequestro de cátions do radical ABTS (2,2'-azinobis (3-etil-benzotiazolína-6-sulfonato) de acordo com Re et al. (1999). Os cátions radicais ABTS foram produzidos reagindo a solução ABTS (7 mmol.L<sup>-1</sup>) com uma solução de persulfato de potássio (140 mmol.L<sup>-1</sup>) e deixando a mistura em repouso no escuro à temperatura ambiente por 16 horas antes do uso. A solução de trabalho ABTS foi preparada diluindo a solução estoque ABTS com etanol absoluto até atingir absorvância de 0,700 ± 0,020 a 734nm. Para as análises, 30 µL de extrato hidrofílico ou lipofílico foram adicionados em tubo de ensaio e misturados com 3 mL da solução de trabalho ABTS. Após 30 minutos de incubação no escuro, a absorvância foi lida a 734 nm. A quantificação foi realizada usando uma curva de calibração com o padrão Trolox e os resultados foram expressos em µmol de TE/g de amostra.

#### 3.6.4.3. Método de redução do ferro (FRAP)

O teste FRAP foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Benzie e Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado a partir de solução tampão de acetato de sódio (300 mmol.L<sup>-1</sup>, pH 3,6), solução de TPTZ (10 mmol.L<sup>-1</sup>) (diluída em solução de ácido clorídrico (40 mmol.L<sup>-1</sup>) e cloreto férrico (III) solução (20 mmol.L<sup>-1</sup>) na razão de volume de 10:1:1 (v/v/v), respectivamente. Em seguida, uma alíquota de 45 µL de extrato foi transferida para tubos de ensaio mais 135 µL de água destilada e 1,35 mL de reagente FRAP. A solução foi homogeneizada e mantida no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente. A absorvância foi medida a 595 nm e comparada com uma curva de Trolox padrão. Os resultados foram expressos em µmol de TE/g de amostra.

O EORG foi avaliado utilizando as mesmas metodologias e procedimentos, no entanto, os volumes foram adaptados para execução em microplacas de 96 poços conforme FIGURA 8. As leituras foram realizadas em leitor de microplacas (MultiskanTM), utilizando os filtros de 690 nm (TPC), 540 nm (TFC), 540 nm (DPPH), 620 nm (FRAP) e 690 nm (ABTS).

FIGURA 8 – ADAPTAÇÃO DOS MÉTODOS PARA EXECUÇÃO EM MICROPLACAS.



### 3.6.5. Identificação e quantificação de compostos fenólicos por CLAE-DAD

A identificação e quantificação dos compostos fenólicos do EORG foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Diodo (CLAE-DAD) (Thermo Scientific, Alemanha, modelo Dionex UltiMate 3000). As amostras foram filtradas em filtro de seringa de nylon de 0,22  $\mu$ m (Millipore) e injetadas (20  $\mu$ L) a 30 °C. A análise cromatográfica foi realizada usando uma coluna ACE 5 C18 (250  $\times$  4,6 mm, tamanho de partícula de 5  $\mu$ m, porosidade de partícula de 100 Å, porosidade de volume de 1,0 mL/g e área de superfície de 300 m<sup>2</sup>/g). A fase móvel foi formada por acetonitrila pura (A) e solução aquosa de ácido fórmico 0,1% (B) (v/v). A taxa de fluxo foi realizada a 1,2 mL/min, a temperatura da coluna foi mantida a 35°C e a seguinte condição de eluição foi empregada: 0min=100%B, 15min=75%B, 25min=30%B, 40min=100%B.

As equações de regressão linear foram realizadas plotando as áreas de pico contra as quantidades injetadas de compostos padrão (TABELA 7). A construção das curvas de calibração baseou-se na área do pico vs concentração das soluções padrão. Os picos cromatográficos foram confirmados comparando seu tempo de retenção com os dos padrões de referência. Os padrões empregados nas análises de CLAE-DAD foram ácido gálico (270 nm), catequina (280 nm), epicatequina (280 nm),

quercetina (360 nm) e ácido clorogênico (330 nm), e as concentrações encontradas no EORG foram expressas em µg/mL.

TABELA 7 – PARÂMETROS DA METODOLOGIA DA ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR CLAE-DAD.

Composto	Banda UV (nm)	Equação de regressão	R <sup>2</sup>	LD (mg)	LQ (mg)
Ácido gálico	270	$y = 0,8086x + 0,6877$	0,9550	0,006	0,021
Catequina	280	$y = 0,8086x + 0,6877$	0,9611	0,029	0,098
Epicatequina	280	$y = 0,8086x + 0,6877$	0,9559	0,006	0,021
Quercetina	360	$y = 0,0355x + 0,2811$	0,9753	0,001	0,004
Ácido clorogênico	330	$y = 0,825x + 0,0722$	0,9749	0,01	0,04

### 3.6.6. Identificação e quantificação da fração lipídica por CG-EM

As frações lipídicas obtidas UAE-H, SE-H e SE-EP foram caracterizadas quanto ao perfil químico usando cromatografia em fase Gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) (TQ 8040, Shimadzu). A análise foi conduzida no Laboratório Multiusuário do Departamento de Química da UFPR. As amostras foram previamente esterificadas seguindo o método proposto por Ichihara e Fukubayashi (2010), com modificações. Resumidamente, 100 mg da amostra foram pesados em um tubo de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 1,5 mL de solução de NaOH em metanol (0,5 mol.L<sup>-1</sup>). Os tubos foram aquecidos em banho-maria a 90 °C durante 10 min. Após o resfriamento, foram adicionados 4,5 mL de uma solução esterificante (2,0 g de cloreto de amônio em 60 mL de metanol e adição de 3 mL de ácido sulfúrico concentrado). Os tubos foram novamente aquecidos em banho-maria a 90 °C por 10 min. Após resfriamento à temperatura ambiente, adicionou-se 2,5 mL de hexano padrão HPLC e 2,0 mL de água destilada, seguido por agitação vigorosa. O sobrenadante foi recolhido e filtrado em filtro de seringa de 45 µm.

O volume de injeção foi de 1µL. Durante a operação, o detector foi mantido a 280°C e o injetor a 250°C. A injeção foi realizada em modo split (1:50) e a separação realizada em coluna SH-Rtx-5MS (Shimadzu) (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O forno foi ajustado para 50 °C por 1min, após o qual foi aquecido até 25 °C/min a 175 °C, e então a 4 °C/min até 230 °C. A temperatura final foi mantida por 20 minutos. Os compostos foram identificados com base na base de dados da biblioteca NIST-11 e os resultados expressos em porcentagem de área.

### 3.7. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÓLEOS

#### 3.7.1. Parâmetros físico-químicos

Os óleos foram avaliados quanto ao seu índice de acidez (método 325/IV) seguindo os métodos propostos (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2008). O índice de refração foi medido a 20 °C em um refratômetro Abbe (Biobrix) adicionando algumas gotas das amostras ao equipamento com o auxílio de uma pipeta. A densidade foi obtida a 20 °C em um densímetro de tubo vibratório Anton Paar (DMA 500 M) utilizando 5 mL de amostra.

#### 3.7.2. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A técnica de FT-IR foi utilizada para investigar a estrutura molecular físico-química dos extratos lipídicos obtidos. A análise foi realizada no modo de refletância difusa (DRIFT) usando um espectrofotômetro infravermelho (Bruker Vertex 70). Os espectros de IR foram registrados na faixa de 400–4000  $\text{cm}^{-1}$  com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . O pó de KBr seco foi usado para fazer a pastilha na qual as amostras foram distribuídas uniformemente para formar filmes líquidos finos para análise de espectrometria no infravermelho. Os gráficos foram gerados usando o software Origin versão 9.1 (OriginLab Corporation, Massachusetts, EUA).

#### 3.7.3. Comportamento térmico

Os experimentos de calorimetria de varredura diferencial (DSC) foram realizados usando um DSC (850 Perkin Elmer Inc. Waltham, EUA) equipado com nitrogênio ( $\text{N}_2$ , 99,999%) como gás de purga. Cerca de 4 mg dos extratos foram pesados e selados em uma panela de alumínio hermética. Foi realizado um teste de resfriamento e aquecimento. O seguinte programa de tempo-temperatura foi usado: equilíbrio a 20 °C por 5 min para garantir a homogeneização completa da temperatura da amostra e então aquecida a 50 °C a 5 °C/min, temperatura mantida por 5 min seguida de resfriamento a – 80 °C a 5 °C/min para induzir a cristalização e mantendo a esta temperatura por 5 min e posteriormente aquecendo de -80 a 50 °C a 5 °C/min para obter o perfil de fusão (FETZER et al., 2021).

A análise termogravimétrica (TG) foi realizada através de uma panela de alumínio aberta. Cerca de 10 mg de amostras de óleo foram colocadas no equipamento TG e submetidas a uma taxa de aquecimento de 10,00 °C/min, de 30 a 750 °C, à pressão atmosférica em contato com uma vazão constante de 50 mL/min de ar sintético (White Martins S.A., 99,5% puro). As porcentagens de perda de massa foram avaliadas pelo software de análise de dados Pyris Manager (PerkinElmer Inc., EUA, versão 11.1). Com o mesmo software, foram determinadas as respectivas variações de temperatura relacionadas à perda de massa e as temperaturas de pico dos eventos térmicos, obtidas a partir da termogravimetria derivada (DTG). O gráfico foi gerado pelo software Origin versão 9.1 (OriginLab Corporation, Massachusetts, EUA).

### 3.8. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

#### 3.8.1. Atividade antimicrobiana

##### 3.8.1.1. Microrganismos e preparação da suspensão bacteriana

As atividades antimicrobianas de todos os extratos foram testadas contra as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus cereus* (ATCC 11778), Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (ATCC 1402) e a levedura *Candida albicans* (ATCC 10231). Os microrganismos foram fornecidos pelo Laboratório de Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal - Paraná, Curitiba, Brasil, onde foram realizadas as análises.

A preparação do inóculo foi realizada a partir de colônias cultivadas entre 20 e 22 h a 37 °C em ágar Mueller-Hinton (MH) para as bactérias e ágar Sabouraud dextrose para as leveduras. As colônias foram colhidas do meio de cultura e transferidas para tubos contendo solução salina (NaCl) a 0,85%. A turbidez da suspensão inicial foi ajustada por comparação com o padrão 0,5 de McFarland. A suspensão inicial continha cerca de 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônias (UFC) mL<sup>-1</sup> (WIEGAND; HILPERT; HANCOCK, 2008).

### 3.8.1.2. Método de difusão por disco

O método de difusão por disco foi realizado de acordo com Hudzicki (2009) como método de triagem para verificar a suscetibilidade dos microrganismos frente aos extratos. A princípio, placas de Petri contendo ágar MH e ágar Sabouraud foram preparadas e discos de papel foram submersos no EORG ( $100 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e nos óleos brutos durante 15 minutos. Para inoculação, um swab foi imerso na suspensão bacteriana inicial ( $10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ ) retirando-se o excesso de inóculo. As placas foram então inoculadas esfregando delicadamente o swab em sua superfície e girando-as de modo a garantir uma distribuição uniforme. Após a secagem das placas, os discos de papel embebidos de amostra foram colocados em sua superfície. As placas foram incubadas a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 24 h. Os resultados foram obtidos medindo-se o diâmetro do halo de inibição expressos em mm.

### 3.8.1.3. Método de microdiluição

O método de microdiluição foi utilizado para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos e EORG. Uma diluição (1:100) da suspensão bacteriana foi preparada em caldo MH antes da inoculação das microplacas. A suspensão de levedura foi preparada em caldo Sabouraud, partindo da suspensão inicial para uma diluição de 1:100 seguida de outra diluição de 1:20 (CLSI, 2002).

As placas de 96 poços foram preparadas inicialmente distribuindo  $50 \text{ }\mu\text{L}$  de caldo MH (caldo Sabouraud para *C. albicans*) em cada poço. Um volume de  $50 \text{ }\mu\text{L}$  das amostras diluídas ( $500 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) foi adicionado na primeira linha da coluna da microplaca (cada amostra em uma única linha da coluna), e diluições seriadas (1:1) foram feitas em cada linha. A faixa de concentração obtida variou de 250 a  $0,015 \text{ mg.mL}^{-1}$ . Em seguida,  $50 \text{ }\mu\text{L}$  da suspensão bacteriana em caldo MH (cerca de  $10^5 \text{ UFC.mL}^{-1}$ ) foram adicionados ao conteúdo dos poços. Para *C. albicans*, o procedimento consistiu na adição de  $100 \text{ }\mu\text{L}$  das amostras diluídas em  $100 \text{ }\mu\text{L}$  de caldo Sabouraud. Após diluição seriada,  $100 \text{ }\mu\text{L}$  da suspensão de levedura (cerca de  $10^3 \text{ UFC.mL}^{-1}$ ) foram adicionados aos poços. As microplacas foram incubadas a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  por 18 a 20 horas (WIEGAND; HILPERT; HANCOCK, 2008).

A MIC foi definida como a menor concentração das amostras que impediu o crescimento microbiano. Para determinar esta concentração, após o período de

incubação, foram adicionados 30  $\mu\text{L}$  de solução de resazurina 0,01% (p/v) para verificar visualmente o crescimento bacteriano pela mudança de cor de azul para rosa (SARKER; NAHAR; KUMARASAMY, 2007). Cada placa de teste incluiu controle de crescimento e controle de esterilidade. O antibiótico utilizado como referência foi o ciprofloxacino para bactérias (concentração inicial de  $32 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e a nistatina para leveduras (concentração inicial de  $64 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

Para a concentração bactericida mínima (CBM), 30  $\mu\text{L}$  de cada poço, que não alteraram a cor, foram inoculados em placas de Petri contendo ágar nutriente (ágar Sabouraud dextrose para *C. albicans*), que foram incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 h. O MBC foi considerado a menor concentração na qual não houve desenvolvimento de colônias na superfície do meio de cultura.

### 3.8.2. Atividade antiglicêmica

#### 3.8.2.1. Inibição da enzima $\alpha$ -amilase

A inibição da enzima  $\alpha$ -amilase pelos extratos do resíduo da gabiroba foi avaliada para indicar a capacidade antidiabetes tipo 2 dos extratos de acordo com Silva et al. (2014) com adaptações. Os extratos foram diluídos em DMSO para testar as concentrações de 25, 15, 10 e  $1 \text{ mg.mL}^{-1}$  para os óleos (UAE-H, SE-H e SE-EP) e 100, 60, 30, 15 e  $5 \text{ mg.mL}^{-1}$  para o EORG. Primeiro, 240  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de sódio ( $20 \text{ mmol.L}^{-1}$  contendo  $\text{NaCl } 6,7 \text{ mmol.L}^{-1}$ , pH 6,9) foi adicionado a cada tubo, seguido por 25  $\mu\text{L}$  dos extratos nas concentrações a serem testadas. Em seguida, 10  $\mu\text{L}$  da solução ( $74 \text{ U/mL}$ ) da enzima  $\alpha$ -amilase da saliva humana (EC 3.2.1.1, tipo XIII-A, Sigma Chemical Co., Saint Louis, EUA) foram adicionados a cada tubo e incubados a  $37^\circ\text{C}$  por 15 minutos. Logo após, foram adicionados 250  $\mu\text{L}$  da solução de amido de batata (1%). Novamente, os tubos foram incubados a  $37^\circ\text{C}$  por 15 min. A reação foi interrompida pela adição de 500  $\mu\text{L}$  de uma solução de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Os tubos foram levados ao banho de ebulição a  $100^\circ\text{C}$  por 5 minutos e então resfriados à temperatura ambiente. 5 mL de água destilada foram adicionados a cada tubo e, em seguida, a absorbância foi lida a 550 nm. As leituras foram comparadas com o controle ( $\text{Abs}_{\text{controle}}$ ) contendo água destilada no lugar do extrato, o branco da amostra ( $\text{Abs}_{\text{branco da amostra}}$ ) contendo água destilada no lugar da enzima e o branco

enzimático ( $Abs_{\text{branco enzimático}}$ ) que substituiu a enzima e o extrato com água destilada. A porcentagem de inibição enzimática para cada concentração de amostra foi calculada de acordo com a Equação 4, e os resultados foram expressos como porcentagem de inibição e concentração de amostra ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de reação) necessária para inibir 50% da atividade enzimática ( $IC_{50}$ ).

$$Inibição (\%) = 100 - \left( \frac{(Abs_{\text{amostra}} - Abs_{\text{branco da amostra}})}{(Abs_{\text{controle}} - Abs_{\text{branco enzimático}})} \times 100 \right) \quad (4)$$

### 3.8.2.2. Inibição da enzima $\alpha$ -glicosidase

A inibição da enzima  $\alpha$ -glicosidase para as amostras foi medida de acordo com o método proposto por Souza et al. (2018), com adaptações. Alíquotas de 10  $\mu\text{L}$  dos extratos, previamente diluídos em DMSO nas concentrações de 0,125 até 1  $\text{mg.mL}^{-1}$  para os óleos e de 0,5 até 5  $\text{mg.mL}^{-1}$  para o EORG, foram adicionados em microplaca de 96 poços e o volume de cada poço foi completado para 50  $\mu\text{L}$  com tampão fosfato de potássio 0,1 M a pH 6,9. Na sequência, 100  $\mu\text{L}$  da solução da enzima  $\alpha$ -glicosidase (1  $\text{U.mL}^{-1}$ ) (EC 3.2.1.20, Sigma Chemical Co., Saint Louis, EUA) foi adicionado a cada poço contendo as amostras em tampão fosfato. A placa foi incubada a 25 °C por 10 min e, em seguida, 50  $\mu\text{L}$  da solução de substrato p-nitrofenil- $\alpha$ -glucopiranosídeo (p-NPG, Sigma Chemical Co., Saint Louis, EUA) foram adicionados. A absorbância das amostras foi avaliada no Laboratório de Fisiologia do Departamento de Bioquímica da UFPR. A 1ª leitura (0 min) foi realizada a 405 nm, e a placa foi novamente incubada a 25 °C por 5 min. Em seguida, foi realizada a 2ª leitura (5 min) a 405 nm. A reação e a leitura foram realizadas em leitor de microplacas (TECAN – Infinite M 200). As leituras foram comparadas com o controle, contendo 50  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato no lugar dos extratos. A porcentagem de inibição enzimática para cada concentração de amostra foi calculada de acordo com a Equação 5, e os resultados foram expressos como porcentagem de inibição e concentração de amostra ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de reação) necessária para inibir 50% da atividade enzimática ( $IC_{50}$ ).

$$Inibição (\%) = \frac{(Abs_{\text{ctl 5 min}} - Abs_{\text{ctl 0 min}}) - (Abs_{\text{amostra 5 min}} - Abs_{\text{amostra 0 min}})}{(Abs_{\text{ctl 5 min}} - Abs_{\text{ctl 0 min}})} \quad (5)$$

### 3.8.3. Citotoxicidade *in vitro*

Células HEK293 de tipo selvagem (WT) e células H460 WT de câncer do pulmão não pequeno humano foram gentilmente cedidas pelo Dr. Attilio Di Pietro (IBCP, Lyon, França). Todas as células foram mantidas em meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) com alto teor de glicose, suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS), 1% de penicilina / estreptomicina a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> sob umidade controlada. As análises envolvendo essas linhagens celulares foram realizadas no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF - UFPR).

A viabilidade celular foi avaliada com um ensaio colorimétrico de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) (MOSMANN, 1983). As células HEK293 WT e H460 WT foram semeadas em placas de cultura de 96 poços a uma densidade de  $3 \times 10^4$  e  $1,6 \times 10^4$  células/poço durante 24 h e 72 h de tratamento, respectivamente. Após incubação durante a noite, as células foram tratadas com concentrações crescentes de compostos (3,125 a 1600  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , diluição em série de 2 vezes) durante 24 e 72 horas a 37 °C sob 5% de CO<sub>2</sub>. Após o tratamento, foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  de uma solução de MTT 0,5  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , as células foram então incubadas por 4 h a 37 °C sob 5% de CO<sub>2</sub>. Os cristais de formazan foram dissolvidos com uma solução de 100  $\mu\text{L}$  de DMSO/etanol (1:1) e a absorvância foi medida a 595 nm utilizando um leitor de absorvância de microplacas iMark™ (Bio-Rad). Os resultados foram expressos como percentagem de células viáveis versus células de controlo (0,3% de DMSO (v/v) considerado como 100%).

### 3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados experimentais foram expressos por médias de pelo menos 3 repetições seguidas de desvio padrão. A comparação das médias entre os grupos foi realizada pela análise de variâncias unifatorial (ANOVA) e as diferenças entre os tratamentos identificadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). A homocedasticidade do conjunto de dados foi verificada pelo teste de Levene e a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. O software Statistica®, versão 10.0 (StatSoft, Tulsa, EUA) foi utilizado na análise.

## **CAPÍTULO IV**

### *Resultados e Discussão*

---

## CAPITULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Seção I – Composição centesimal e bioacessibilidade do resíduo da gabioba

#### 4.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO RESÍDUO DA GABIROBA

A composição nutricional do resíduo da gabioba (umidade, cinzas, proteínas, lipídios, fibras e carboidratos) úmido (RGU) e seco (RGS) pode ser encontrada na TABELA 8. Os dados em base seca são apresentados como forma de introduzir o resíduo da gabioba como um novo produto na forma de matriz farinácea a ser utilizada como alimento não convencional ou como matéria-prima na obtenção de produtos. Esse modelo de consumo é utilizado em Irati – PR onde os produtores de gabioba preparam a farinha do fruto integral e a utilizam em formulações alimentares.

TABELA 8 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DO RESÍDUO DA GABIROBA.

Componente	RGU	RGS
Umidade	72,27 ± 0,09	9,32 ± 0,72
Cinzas	0,70 ± 0,02	2,29 ± 0,01
Proteínas	2,20 ± 0,08	7,19 ± 0,02
Lipídios	5,80 ± 0,59	18,97 ± 0,06
Fibras	14,55 ± 0,29	47,58 ± 0,15
Carboidratos*	4,48	14,65 ± 0,05

RGU, resíduo da gabioba úmido; RGS, resíduo da gabioba seco. \* Obtido por diferença. Valores expressos em g/100.

Os dados apresentados na TABELA 8 são semelhantes aos encontrados por Alves et al., (2013) na composição centesimal do resíduo de *C. adamantium* (Gabioba-verde) (Umidade: 63,7%; Cinzas: 0,74%; Proteínas: 3,17%; Lipídios: 5,33%; Fibras: 24,05%; e Carboidratos: 3%). O RGU apresentou teor de umidade (72%) mais baixo do que o fruto integral (TABELA 1). Isso é esperado, uma vez que a polpa apresenta o maior percentual de umidade no fruto. O resíduo seco apresentou 9,32% de umidade, encontrando-se dentro dos padrões exigidos pela legislação brasileira para farinhas, que estabelece um limite de 15% (ANVISA, 2005). Esse parâmetro é importante uma vez que níveis elevados de umidade podem proporcionar

crescimento e deterioração microbiana (CAVALCANTE et al., 2022). Assim, baixos percentuais de umidade são favoráveis para maior estabilidade durante o armazenamento. Após a remoção da umidade, a proporção dos outros constituintes do resíduo da gabiroba tende naturalmente a aumentar.

O conteúdo de cinzas no fruto integral da gabiroba variou entre 0,47 e 0,68% (TABELA 1), logo o teor deste componente no RGU (0,7%) está em conformidade com os dados encontrados na literatura para o fruto inteiro (PEREIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2012b; VALLILO et al., 2008). O teor de cinzas no RGS foi de 2,29% e está relacionado ao conteúdo de minerais, que não se perde após o processo de secagem, diferente das vitaminas, aminoácidos e outros micronutrientes que são afetados pela exposição ao calor, luz, agentes oxidantes e pH extremo (CAVALCANTE et al., 2022; IKEDA et al., 2021).

O teor de proteína do resíduo úmido foi de 2,2%, 2 vezes maior do que o valor encontrado por Santos et al., (2012a) (1,1 %), mas 2,5 vezes inferior ao encontrado por Pereira et al., (2012) (5,5 % de proteína). O teor de carboidrato foi de 4,48 %, menor do que os dados encontrados no fruto integral (7,75 – 17,71 %), o que pode ser atribuído a remoção da polpa, onde estão presentes a maior parte dos açúcares dos frutos (PEREIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2012b; VALLILO et al., 2008).

A remoção da água no processo de obtenção do resíduo seco, resultou em um aumento na concentração dos componentes quando comparados ao resíduo úmido. O teor de proteínas do RGS (7,19%) mostra seu potencial como fonte de nutrientes, tendo em vista que um produto alimentício pode ser considerado fonte de proteínas quando apresenta pelo menos 6 g deste componente em uma porção de 100g (ANVISA, 2012). O teor de carboidratos encontrado para o RGS (14,65%) é comparável ao encontrado para os frutos inteiros gabiroba (15,7 e 17,7%) (PEREIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2012b).

As macromoléculas que se destacam na composição do resíduo seco e úmido são os carboidratos, com ênfase para a subclasse de fibras alimentares, com um conteúdo de corresponde a 47,58% e 14,55%, respectivamente, consideravelmente superior ao dos demais componentes. As alegações de “fonte” e “alto teor” de fibras exigem as quantidades mínimas de 3 e 6 g, respectivamente, por porção de 100g (ANVISA, 2012). O teor de fibras apresentado pelo resíduo da gabiroba permite classifica-lo com alto teor de fibra. Vários autores argumentam que os subprodutos das frutas são ricos em fibras alimentares, principalmente as cascas. As fibras

representam 40 g/100g da massa de cascas de pequi (LEÃO et al., 2017) e cerca de 16 g/100g da farinha do resíduo do bacupari (MELO et al., 2022).

Estudos anteriores também evidenciaram o potencial da polpa de gabioba para fibras, com alto teor de fibras solúveis, sendo promissora para extração de polissacarídeos como galactoglucomana (BARBIERI et al., 2017) e pectinas (AMARAL et al., 2019; BARBIERI et al., 2019; DIAS et al., 2020). Esses polímeros são importantes na indústria de alimentos, devido às suas propriedades gelificantes e estabilizantes. Além disso, os polissacarídeos pécticos têm aplicações farmacológicas, como atividades imunorregulatórias, antiinflamatórias, hipoglicêmicas, antioxidantes e antitumorais (RAPHAELLI et al., 2021). No trabalho de Amaral et al. (2019) a gabioba foi apresentada como uma nova fonte de pectina com efeito citotóxico seletivo em células de glioblastoma (tumor cerebral). A ingestão de fibras tem demonstrado um papel positivo no controle da obesidade, prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, diabetes e câncer, além da melhoria do trato intestinal aumentando a diversidade da microbiota e modulando seus efeitos no sistema imunológico da mucosa para prevenção de doenças inflamatórias intestinais (HE et al., 2022).

O teor de lipídios encontrado no RGU da gabioba foi superior ao encontrado nos frutos inteiros. Cerca de 5,8% da massa do resíduo úmido da gabioba corresponde aos lipídios, enquanto para o fruto integral o teor foi de 3,7% (PEREIRA et al., 2012). Para o RGS a concentração de lipídios é de cerca de 19 g/100g. Nas frutas, as sementes geralmente apresentam a maior concentração de lipídios (ALVES; SIMOES; DOMINGUES, 2021), pois são o principal composto de reserva e são armazenados nessa parte da planta (MELO et al., 2022). A remoção da polpa e da umidade para obtenção do resíduo, contribuiu para o aumento dos lipídios. Além disso, a quantidade de lipídios observada no presente trabalho para o resíduo da gabioba, foi elevada quando comparada a outros frutos como o araçá-amarelo (1,53%), uvaia (0,52%), banana (0,3%), mamão (0,8%) e laranja (média de 1,2%) (PEREIRA et al., 2012). De acordo com Santos et al. (2012) os lipídios do resíduo da gabioba, podem conter ácidos graxos essenciais (AGE), como o oleico e linoleico, devido a presença de sementes.

Cascas e sementes de frutas têm sido amplamente identificadas e caracterizadas como potenciais ingredientes alimentares e fontes de fibra alimentar e compostos bioativos. Estudos têm demonstrado que subprodutos de frutas podem ser

transformados em farinhas para consumo humano, uma vez que são fontes de nutrientes e são uma alternativa para o descarte de resíduos. Essas farinhas podem ser empregadas como substitutos parciais de outras farinhas na produção de biscoitos, bolos, pães e cereais, contribuindo para o enriquecimento dos produtos e para a prevenção de desperdícios (CAVALCANTE et al., 2022; IKEDA et al., 2021; MELO et al., 2022).

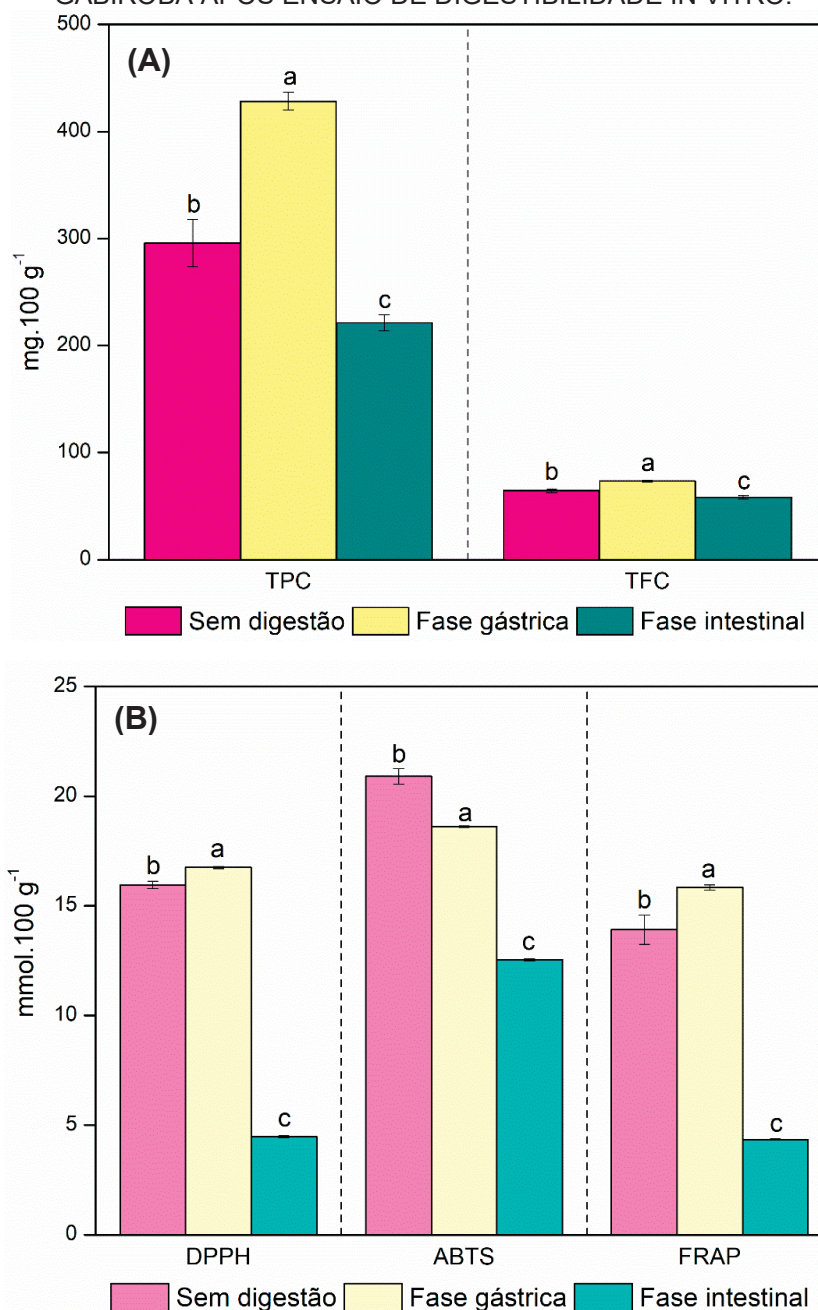
#### 4.2. DIGESTÃO GASTROINTESTINAL *IN VITRO*

As propriedades biológicas apresentadas pelos compostos bioativos dependem de sua bioacessibilidade após o processo de digestão. A bioacessibilidade é a quantidade de nutrientes ou componentes que estão disponíveis para serem absorvidos pelo epitélio intestinal (DEMARCO et al., 2022). A simulação da digestão gastrointestinal *in vitro* de alimentos tem sido amplamente utilizada para avaliar a biodisponibilidade e estudar mudanças estruturais, eficiência de liberação, digestibilidade, estabilidade e bioacessibilidade de nutrientes alimentares (CUVAS-LIMON et al., 2022).

A evolução do teor de compostos fenólicos (TPC), flavonoides (TFC) e capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) durante as etapas de digestão gástrica e intestinal *in vitro* do resíduo da gabioba foram investigadas para simular seus efeitos ao transitarem pelo trato gastrointestinal humano (FIGURA 9). No resíduo da gabioba, 75% do TPC e 90% do TFC permanecem bioacessíveis após a fase intestinal, indicando que a maior parte dos flavonoides permanecem estáveis durante a digestão do intestino delgado. Um aumento de 45% no TPC e de 15% para TFC foi observado na fase gástrica, seguida da diminuição desses compostos na fase intestinal. Essas variações podem estar relacionadas às mudanças no pH e às interações entre as enzimas digestivas, ácidos biliares e conjugações de compostos fenólicos (BONIN et al., 2024). Embora as condições ácidas da fase gástrica facilitem a liberação de certos antioxidantes, as condições ligeiramente alcalinas da fase intestinal podem alterar sua estrutura química, afetando sua absorção e biodisponibilidade (ETGETON et al., 2023; LIAO et al., 2022). Pequenas frações dos compostos bioativos são extraídas de uma matriz alimentar e solubilizadas através de líquidos gástricos; a atividade das enzimas digestivas e intestinais durante a digestão

gastrointestinal, associada à liberação de fenólicos ligados à matriz, dá lugar à fração bioacessível (ÁVILA et al., 2023).

FIGURA 9 – COMPOSTOS BIOATIVOS (A) E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (B) DO RESÍDUO DA GABIROBA APÓS ENSAIO DE DIGESTIBILIDADE IN VITRO.



TPC, compostos fenólicos totais; TFC, flavonoides totais. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tuckey ( $p < 0,05$ ).

A liberação de compostos fenólicos na fase gástrica e a subsequente degradação ou conversão na fase intestinal sugere uma interação complexa entre o processo digestivo e a biodisponibilidade destes compostos. As fases oral e gástrica

foram propícias à liberação de compostos fenólicos ligados a fibra alimentar e proteínas, enquanto as condições ligeiramente alcalinas na fase intestinal podem levar à degradação ou conversão dos compostos fenólicos. Além disso, é possível que haja liberação e estabilidade diferente de compostos fenólicos durante a digestão *in vitro* (LIAO et al., 2022). Isso é demonstrado no trabalho de Ma et al. (2023) que observaram um aumento dos derivados do ácido *p*-cumárico e rutina na fase gástrica, seguida de uma diminuição dos ácidos fenólicos e manutenção dos níveis de rutina em relação as amostras não digeridas, após a fase intestinal. Um comportamento semelhante é observado para TPC e TFC no presente trabalho. Por outro lado, a bioacessibilidade da gabirola liofilizada e de seus extratos foi estudada por Etgeton et al. (2023) que observaram uma diminuição gradual no teor de TPC, TFC e capacidade antioxidante ao longo da simulação do trato gastrointestinal.

A capacidade antioxidante do resíduo da gabirola pelos métodos FRAP e DPPH também aumentou na fase gástrica (FIGURA 9B). O ABTS apresentou uma diminuição gradual conforme a evolução do processo de digestivo. Uma redução de 72%, 42% e 69% na capacidade antioxidante em relação ao resíduo não digerido, foi observada após a fase intestinal. Isso é esperado, uma vez que houve maior liberação de compostos fenólicos na fase gástrica seguida de uma diminuição na fase intestinal, e existe uma relação de proporcionalidade entre esses parâmetros (BONIN et al., 2024). A fibra alimentar presente no resíduo da gabirola pode atuar como barreira, protegendo os compostos fenólicos e flavonoides das condições adversas do trato gastrointestinal, principalmente na fase intestinal. Este efeito protetor pode prevenir ou minimizar as interações dos compostos bioativos com outras substâncias, enzimas digestivas ou fluidos no intestino, auxiliando assim na preservação de sua biodisponibilidade e capacidade antioxidante (ETGETON et al., 2023).

### 4.3. CONCLUSÃO

O resíduo da gabioba pode ser considerado uma fonte de compostos naturais devido à presença de nutrientes e à biodisponibilidade do seu conteúdo fenólico e flavonoides. A aplicação industrial da farinha do resíduo da gabioba se apresenta favorável frente ao alto teor de fibras e conteúdo significativo de proteínas como ingrediente funcional para a obtenção de alimentos nutricionalmente enriquecidos. A coloração da farinha indica sua aplicação em uma gama de alimentos que exigem cor como atributo sensorial. Após a digestão simulada, uma quantidade substancial de antioxidantes permaneceu estável nas fases gástrica e intestinal.

Esses resultados oferecem soluções potenciais para mitigar o volume de resíduos gerados no processamento da gabioba. No entanto, mais estudos para agregar os dados do potencial tecnológico e industrial da farinha do resíduo da gabioba, bem como sua segurança alimentar, são necessários.

## Seção II - Otimização da extração de compostos bioativos e propriedades biológicas do resíduo da gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*)

### 4.4. COMPOSIÇÃO FENÓLICA E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS

O efeito da mistura de solventes na extração de compostos fenólicos foi verificado com base nos métodos de TPC, TFC, DPPH, ABTS e FRAP. A TABELA 9 apresenta os dados para compostos fenólicos e flavonoides e mostra que houve diferenças significativas entre os valores médios, demonstrando que o sistema de solvente afeta diretamente a extração de compostos fenólicos do resíduo da gabiroba. Os TPC variaram de 966 a 3024 mg GAE/100g de amostra, enquanto o teor de TFC variou de 102 a 1739 mg CAT/100g de amostra. Os extratos obtidos com 100% de água apresentaram os valores mais baixos de TPC e TFC. As maiores concentrações foram obtidas nos ensaios 4, 5, 7, 8 e 10, e não foram observadas diferenças significativas na concentração de compostos fenólicos entre os ensaios 4 e 10 e entre os ensaios 5 e 7.

TABELA 9 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FRAÇÕES HIDROFÍLICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA DE ACORDO COM O DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.

Ensaio	Planejamento de mistura			Compostos fenólicos totais (mg GAE/100g)	Flavonoides totais (mg CAT/100g)
	(% de solvente)				
	Água	Etanol	Acetona		
1	100	0	0	966,10 ± 32,78 <sup>g</sup>	102,01 ± 12,19 <sup>h</sup>
2	0	100	0	1853,41 ± 36,90 <sup>e</sup>	408,71 ± 22,20 <sup>g</sup>
3	0	0	100	2034,54 ± 76,69 <sup>de</sup>	707,79 ± 8,41 <sup>f</sup>
4	50	50	0	2567,84 ± 62,41 <sup>bc</sup>	862,85 ± 27,19 <sup>e</sup>
5	50	0	50	3024,71 ± 103,80 <sup>a</sup>	1420,57 ± 23,12 <sup>c</sup>
6	0	50	50	1573,86 ± 125,56 <sup>f</sup>	710,69 ± 26,01 <sup>f</sup>
7	33,3	33,3	33,4	2529,34 ± 59,09 <sup>c</sup>	1598,87 ± 30,49 <sup>b</sup>
8	66,6	16,7	16,7	2217,29 ± 27,05 <sup>d</sup>	923,43 ± 21,75 <sup>d</sup>
9	16,7	66,6	16,7	1952,85 ± 55,52 <sup>e</sup>	941,75 ± 18,44 <sup>d</sup>
10	16,7	16,7	66,6	2749,80 ± 126,15 <sup>b</sup>	1739,40 ± 25,86 <sup>a</sup>
<i>p</i> -valor (normalidade)				0,929	0,730
<i>p</i> -valor (homoscedasticidade)				0,193	0,381
<i>p</i> -valor ( <i>one-way</i> ANOVA)				<0,001	<0,001

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tuckey ( $p < 0,05$ ).

O maior valor médio para TPC foi observado na mistura binária de água e acetona (50%; 50%) (ensaio 5). Esse resultado foi 11 vezes maior quando comparado

ao obtido por Arcari et al. (2020), que utilizaram um planejamento de mistura composto por metanol, solução de ácido acético (2%) e acetonitrila para obtenção de extratos dos frutos maduros liofilizados de *C. xanthocarpa* em banho ultrassônico (25 °C; 5 min), e obtiveram um teor de TPC de 275 mg GAE/100g. Também foi 17 vezes superior ao conteúdo obtido por Santos et al. (2012a) (177 mg GAE/100g) para os extratos das etanólicos de sementes da gabiroba obtidos em Soxhlet (6h) e 23 vezes superior aos resultados obtidos por Santos et al. (2012b) para extratos da fruta (132 mg GAE/100g). A mistura ternária composta por água, etanol e acetona (16,7%; 16,7%; 66,6%) (ensaio 10) apresentou a maior concentração de TFC. O conteúdo foi 26 vezes superior ao avaliado por Santos et al. (2012b) para o extrato obtido da fruta.

Extratos hidroetanólicos das folhas da *C. xanthocarpa* apresentaram teores de compostos fenólicos e flavonoides de 3600 mg de GAE/100g e 2300 mg de quercetina/100g, respectivamente (LEANDRO et al., 2021), valores comparáveis ao presente trabalho. Por outro lado, Catelan et al., (2019) obteve um valor 16 vezes maior para TPC (48637 mg GAE/100g) e 21 vezes maior para TFC (36922 mg de rutina/100g) para extratos etanólicos das folhas obtidos em ultrassom por 30 minutos em temperatura ambiente. Adicionalmente, os resultados de TPC e TFC obtidos para os extratos do resíduo da gabiroba foram superiores a extratos metanólicos, obtidos em shaker por 24 horas em temperatura ambiente, de resíduos de frutos exóticos brasileiros, como o achachairu, araçá-boi e bacaba (TPC: 20, 41 e 1537 mg AGE/100g, respectivamente; TFC: 2, 2 e 10 mg/100g, respectivamente) (BARROS et al., 2017).

O teor de TFC correspondeu de 10 a 63% do conteúdo de TPC dos extratos, a depender da mistura de solvente. Outras classes de compostos fenólicos são encontradas na *C. xanthocarpa*, como por exemplo os ácidos fenólicos (ARCARI et al., 2020; KLAFKE et al., 2016). No entanto, os ensaios que apresentaram maior conteúdo de TPC consistem dos extratos obtidos com mais proporção de acetona, e correspondem aos extratos com maior percentual de flavonoides, sugerindo que o resíduo da gabiroba apresenta principalmente compostos fenólicos da classe dos flavonoides, uma vez que esses compostos são mais solúveis em solventes anfifílicos (CHEBIL et al., 2007).

Os flavonoides ocorrem na forma de agliconas (forma livre) e glicosídeos (ligados a açúcares). A presença de grupos de açúcares diminui a solubilidade em solventes polares (CHEBIL et al., 2007). A solubilidade dos flavonoides em meio

aquoso está principalmente associada a grupos hidroxila, enquanto os radicais metil e acetil diminuem a polaridade dos flavonoides. Dessa forma, esses compostos seguem uma ordem de hidrofobicidade agliconas > acetilglicosídeos > malonilglicosídeos >  $\beta$ -glicosídeos. A presença de glicose na estrutura química dos acetilglicosídeos, malonilglicosídeos e  $\beta$ -glicosídeos aumenta a solubilidade em água dos flavonoides, devido ao aumento nos grupos –OH (HANDA et al., 2016). No entanto, alguns estudos demonstraram que a ordem de solubilidade dos compostos flavonoides não é consistente com a ordem de polaridade dos solventes, pois a ligação de hidrogênio em solução desempenha um papel importante nesta diferença. Compostos com vários grupos hidroxila podem formar diferentes ligações de hidrogênio em diferentes solventes, logo a alta solubilidade em acetona se deve a forte capacidade de aceitar ligações de hidrogênio desse solvente. Já o etanol e metanol possuem forte capacidade de aceitação e doação de ligação de hidrogênio, logo podem formar ligações entre as moléculas do solvente diminuindo as interações com o composto e conseqüente sua solubilidade (FAN et al., 2015).

A genistina é uma isoflavona que se apresenta na forma de  $\beta$ -glicosídeo e sua solubilidade em solventes puros seguiu a ordem acetona > tetrahidrofurano > metanol > etanol > isopropanol > álcool n-butílico > acetonitrila  $\approx$  acetato de etila > ciclohexano > n-hexano > clorofórmio, apesar da ordem de polaridade desses solventes ser metanol > etanol > álcool n-butílico > isopropanol > acetonitrila > acetona > acetato de etila > clorofórmio > tetrahidrofurano > n-hexano > ciclohexano (FAN et al., 2015). Nan et al. (2014) relataram que a solubilidade do padrão de daidzeína (aglicona) em seis solventes puros foi acetona > metanol > etanoato de etila > hexano > triclorometano > água, semelhante a solubilidade apresentada pela genistéina (aglicona) invertendo a ordem entre metanol e etanoato de etila. A quercetina apresentou maior solubilidade em solvente anfifílicos, como a acetona e álcool amílico e pouca ou nenhuma solubilidade em clorofórmio, água e acetonitrila (CHEBIL et al., 2010). Por outro lado, a rutina e a isoquercetina apresentaram maior solubilidade em álcool amílico, pois a presença dos grupamentos de açúcares diminuiu a solubilidade dessas moléculas em acetona (CHEBIL et al., 2007).

De maneira geral, fatores externos, como condições climáticas e tipo de solo afetam consideravelmente características intrínsecas como a composição química e a síntese endógena de polifenóis nas plantas. Além disso, o solvente, tempo e temperatura de extração, bem como a espécie e parte da planta em estudo

influenciam de forma significativa a obtenção desses compostos (FIDELIS et al., 2020a), explicando a variação no conteúdo de compostos fenólicos e flavonoides no presente estudo em relação a literatura. A polaridade do solvente é um fator relevante na extração de compostos fenólicos de matrizes vegetais, uma vez que influencia na solubilidade dessas biomoléculas (ARCARI et al., 2020). A mudança na polaridade em diferentes soluções solventes, resultará em maior teor de compostos fenólicos extraídos da matriz estudada e favorece a solubilização dos compostos no meio de reação, afetando diretamente a capacidade antioxidante (FIDELIS et al., 2020b). A capacidade antioxidante é uma das propriedades apresentada pelos compostos fenólicos que podem atuar na eliminação de radicais livres, proteção de antioxidantes dietéticos (vitamina E e C) e complexação de íons metálicos, promovendo benefícios adicionais à saúde (ALVES et al., 2013).

Neste estudo, a capacidade antioxidante dos extratos da gabioba obtidos com diferentes proporções de água, etanol e acetona foi avaliada pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP e os valores podem ser encontrados na TABELA 10. Os resultados demonstram que a mistura de solventes (água;etanol;acetona) foi eficiente para a extração de compostos antioxidantes.

TABELA 10 – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DAS FRAÇÕES HIDROFÍLICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA DE ACORDO O DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.

Ensaio	Planejamento de mistura (% de solvente)			DPPH ( $\mu\text{mol TE/g}$ )	ABTS ( $\mu\text{mol TE/g}$ )	FRAP ( $\mu\text{mol TE/g}$ )
	Água	Etanol	Acetona			
1	100	0	0	73,3 $\pm$ 2,0 <sup>gC</sup>	103,4 $\pm$ 3,06 <sup>hA</sup>	85,0 $\pm$ 1,39 <sup>eB</sup>
2	0	100	0	47,6 $\pm$ 2,1 <sup>jB</sup>	92,5 $\pm$ 6,38 <sup>iA</sup>	33,4 $\pm$ 1,56 <sup>iC</sup>
3	0	0	100	62,7 $\pm$ 0,59 <sup>iB</sup>	202,8 $\pm$ 18,67 <sup>fA</sup>	41,3 $\pm$ 0,87 <sup>hC</sup>
4	50	50	0	147,8 $\pm$ 1,99 <sup>eB</sup>	228,2 $\pm$ 4,68 <sup>dA</sup>	104,7 $\pm$ 0,56 <sup>dC</sup>
5	50	0	50	203,7 $\pm$ 4,68 <sup>aB</sup>	273,3 $\pm$ 2,76 <sup>aA</sup>	112,0 $\pm$ 1,95 <sup>cC</sup>
6	0	50	50	68,2 $\pm$ 1,0 <sup>hB</sup>	193,0 $\pm$ 3,35 <sup>gA</sup>	47,8 $\pm$ 1,10 <sup>gC</sup>
7	33,3	33,3	33,4	162,0 $\pm$ 2,67 <sup>dB</sup>	237,5 $\pm$ 2,98 <sup>cA</sup>	121,6 $\pm$ 3,26 <sup>aC</sup>
8	66,6	16,7	16,7	167,1 $\pm$ 3,24 <sup>cB</sup>	215,3 $\pm$ 3,90 <sup>eA</sup>	117,8 $\pm$ 1,45 <sup>bC</sup>
9	16,7	66,6	16,7	123,06 $\pm$ 1,53 <sup>fB</sup>	197,65 $\pm$ 7,43 <sup>fgA</sup>	77,86 $\pm$ 0,36 <sup>fC</sup>
10	16,7	16,7	66,6	175,57 $\pm$ 0,69 <sup>bB</sup>	257,44 $\pm$ 7,94 <sup>bA</sup>	120,90 $\pm$ 6,85 <sup>abC</sup>
<i>p</i> -valor (normalidade)				0,247	0,142	0,09
<i>p</i> -valor (homoscedasticidade)				0,137	0,898	0,566
<i>p</i> -valor ( <i>one-way</i> ANOVA)				<0,001	<0,001	<0,001

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tuckey ( $p < 0,05$ ) entre os ensaios. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tuckey ( $p < 0,05$ ) entre os métodos.

Semelhante ao resultado encontrado na TABELA 9, os extratos obtidos com a mistura de solventes empregada nos ensaios 4, 5, 7, 8 e 10 apresentaram os melhores resultados para a capacidade antioxidante. Com exceção do ensaio 1, todos os demais extratos apresentaram menor capacidade antioxidante pelo método FRAP e todos os ensaios apresentaram maior capacidade antioxidante pelo método ABTS, demonstrando a tendência dos compostos na transferência de elétrons para captura do radical ABTS<sup>+</sup>. A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é atribuída ao poder redutor do grupo fenólico, que reduz os radicais livres e é influenciada pelo número de grupos hidroxila presentes, por suas posições e pelas posições dos locais de glicosilação (SANTOS et al., 2012a).

Os extratos foram capazes de eliminar o radical DPPH<sup>•</sup>, apresentando valores para a capacidade antioxidante que variaram de 47 a 203  $\mu\text{mol TE/g}$ . O extrato obtido a partir da mistura binária de água e acetona (50%; 50%) (ensaio 5) apresentou a maior capacidade antioxidante. Dos 10 extratos obtidos do resíduo da gabiroba, 8 apresentaram valores de DPPH maiores quando comparados ao encontrado para o resíduo da graviola (63  $\mu\text{mol TE/g}$ ), e todos apresentaram resultados menores quando comparados ao resíduo do caju (1551  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (ANDRADE et al., 2022).

O extrato obtido a partir do ensaio 5 apresentou maior capacidade antioxidante pelo método ABTS, 273  $\mu\text{mol TE/g}$ . Este mesmo extrato apresentou maior teor de TPC (3024 mg GAE/100g) conforme mostrado na TABELA 9. Os extratos apresentaram valores que variaram de 92 a 273  $\mu\text{mol TE/g}$ . Extratos hidrometanólicos (70%) da polpa e resíduo liofilizados de *C. adamantium* obtidos com agitação magnética (4 °C; 2h) apresentaram capacidade antioxidante entre 100 e 200  $\mu\text{mol TE/g}$  pelo método ABTS (ALVES et al., 2013), semelhantes aos valores encontrados na TABELA 10. Resultados de ABTS obtidos para extratos metanólicos e cetônicos de frutos pertencentes a família Myrtaceae (goiaba-amarela, gabiroba e uvaia) foi até 2 vezes maior na gabiroba (507  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (PEREIRA et al., 2012). Extratos cetônicos dos frutos da gabiroba liofilizados também apresentaram valor de ABTS de 506  $\mu\text{mol TE/g}$  (PEREIRA et al., 2015), 46% maior ao valor encontrado para o ensaio 5.

Quando avaliada pelo método FRAP, a capacidade antioxidante dos extratos variou de 33 a 121  $\mu\text{mol TE/g}$ . Os maiores resultados pertencem aos extratos obtidos com mistura ternária de solventes, com exceção ensaio 9. Os ensaios 7 (água: 33,3%; etanol: 33,3%; acetona: 33,4%) e 10 (água: 16,7%; etanol: 16,7%; acetona: 66,6%) não apresentaram diferença significativa e obtiveram os maiores resultados para o

método FRAP (121  $\mu\text{mol TE/g}$ ). Valores de FRAP 28% superiores ao presente trabalho foram encontrados para extratos metanólicos do resíduo de bacaba (169  $\mu\text{mol TE/g}$ ) (BARROS et al., 2017). Extratos dos resíduos de caju e graviola avaliados pelo método FRAP apresentaram resultados de 31  $\mu\text{mol TE/g}$  e 6,7  $\mu\text{mol TE/g}$ , respectivamente (ANDRADE et al., 2022), consideravelmente menores aos resultados observados para o resíduo da gabioba.

A partir dos resultados apresentados nas TABELAS 9 e 10, foi sugerida uma relação entre compostos bioativos e capacidade antioxidante, verificada pelo teste de correlação de Pearson. Os extratos apresentaram correlação positiva significativa ( $p < 0,05$ ) entre TPC e DPPH ( $r_{\text{TPC}} = 0,809$ ), ABTS ( $r_{\text{TPC}} = 0,837$ ) e FRAP ( $r_{\text{TPC}} = 0,592$ ). O mesmo ocorreu entre TFC e DPPH ( $r_{\text{TPC}} = 0,814$ ), ABTS ( $r_{\text{TPC}} = 0,871$ ) e FRAP ( $r_{\text{TPC}} = 0,681$ ). Esses dados corroboram com o fato de que as altas capacidades antioxidantes encontradas nos resíduos estão relacionadas aos seus altos teores de fenólicos totais (BARROS et al., 2017). Por outro lado, a correlação observada entre TPC e TFC com o método FRAP foi considerada baixa. Os métodos de avaliação da capacidade antioxidante diferem pelo seu mecanismo de ação cuja os principais são transferência de elétrons e transferência de átomo de hidrogênio. O mecanismo que irá prevalecer dependerá da estrutura do antioxidante, de suas propriedades, solubilidade, coeficiente de partição, sistemas de solventes, ainda da energia de dissociação da ligação e da energia de ionização. Por isso é importante avaliar diferentes métodos. O método FRAP consiste na redução do  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$  por meio da transferência de elétron do antioxidante (MUNTEANU; APETREI, 2021). Como foi observado na TABELA 10 os valores de FRAP foram menores quando comparados ao ABTS e DPPH, logo o mecanismo preferencial pelo qual os compostos fenólicos do resíduo da gabioba atuam com antioxidantes não consiste na capacidade de redução do  $\text{Fe}^{3+}$ , mas sim na transferência de hidrogênio para o radical DPPH e elétrons para a captura do radical  $\text{ABTS}^+$ , o que explica a menor correlação observada entre o método FRAP e TPC e TFC.

#### 4.5. METODOLOGIA SUPERFÍCIE RESPOSTA E PROCESSO DE OTIMIZAÇÃO

O delineamento simplex-centroide aumentado ( $n = 10$  condições), foi usado como um método de triagem para obter a proporção ótima de solventes, para o qual se atingisse o maior rendimento de compostos fenólicos e o maior potencial

antioxidante. Para alcançar este objetivo, a metodologia de superfície resposta foi empregada para avaliar os efeitos dos solventes no teor de TPC, TFC e capacidade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP). A TABELA 11 traz os modelos matemáticos que explicam os efeitos da água, etanol e acetona nos parâmetros analisados. Todos os solventes tiveram efeitos significativos na extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. As equações propostas foram satisfatórias ( $p < 0,05$ ) e os valores de  $R^2$  e  $R^2$  ajustado foram superiores a 97%, indicando que a variabilidade dos dados experimentais pode ser explicada pelos modelos matemáticos. Adicionalmente, os resíduos seguiram distribuição normal ( $p > 0,05$ ; exceto DPPH) mostrando que os modelos descreveram adequadamente a composição fenólica e capacidade antioxidante.

Para as misturas binárias a interação entre água e etanol e água e acetona aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) todos os parâmetros analisados (TPC, TFC, DPPH, ABTS e FRAP). A mistura etanol e acetona apresentou um efeito antagônico para TPC, e de acordo com os coeficientes de regressão, não contribuíram significativamente com os demais parâmetros em relação aos efeitos dos solventes isolados. As misturas ternárias aumentaram principalmente TFC e FRAP. Esses resultados indicam que a mistura de solventes com diferentes polaridades favorece a extração de compostos fenólicos e conseqüentemente a capacidade antioxidante dos extratos. A acetona é o solvente menos polar em comparação ao etanol e a água o que significa que são mais eficientes na degradação da parede celular que possuem caráter apolar que permite a liberação diversos polifenóis. O uso de água em combinação com outros solventes orgânicos contribui para criação de um sistema capaz de extrair compostos fenólicos com ampla faixa de polaridade (ARCARI et al., 2020; UMA; HO; AIDA, 2010).

TABELA 11 – COEFICIENTES DE REGRESSÃO OBTIDOS PELA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR) PARA AVALIAR OS EFEITOS DA COMBINAÇÃO DE SOLVENTES NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DDO RESÍDUO DA GABIROBA.

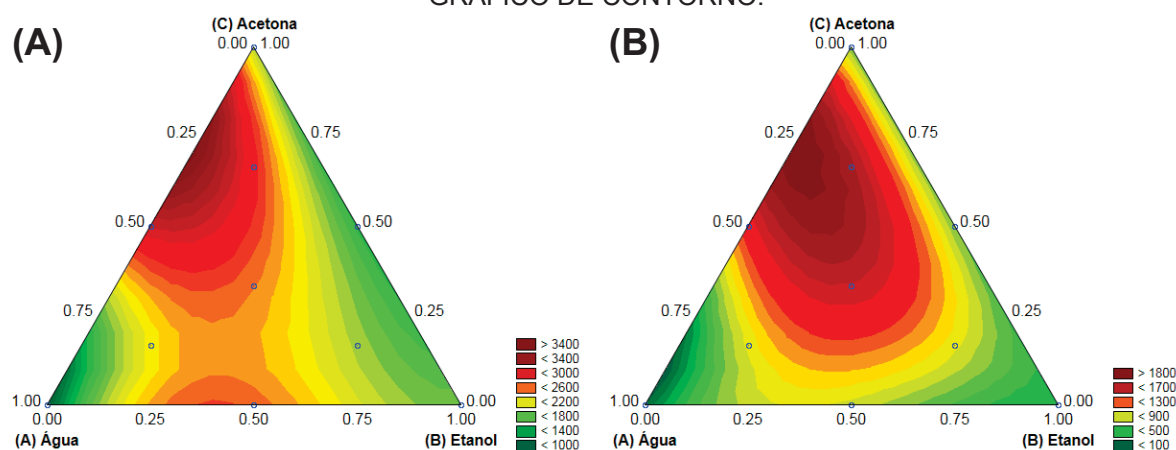
Componentes do modelo	Coefficientes de regressão	Erro padrão	t-valor	p-valor	- 95% de confiança	+ 95% de confiança
<b>Compostos fenólicos totais - TPC</b>						
(A)Água	964	39	24,70	<0,001	884	1044
(B)Etanol	1851	39	47,44	<0,001	1772	1931
(C)Acetona	2032	39	52,09	<0,001	1953	2112
AB	4623	191	24,17	<0,001	4234	5014
AC	6088	191	31,83	<0,001	5699	6479
BC	-1489	191	- 7,78	<0,001	- 1879	- 1099
ABC	-3550	1254	- 2,83	0,008	- 6108	- 992
AB(A-B)	3965	636	6,23	<0,001	2668	5263
AC(A-C)	- 6566	636	-10,32	<0,001	- 7864	- 5269
R <sup>2</sup>	0,9859					
R <sup>2</sup> ajustado	0,9823					
p-valor (normalidade dos resíduos)	0,190					
<b>Flavonoides totais - TFC</b>						
(A)Água	102	11	9,23	<0,001	80	125
(B)Etanol	409	11	36,98	<0,001	386	431
(C)Acetona	708	11	64,03	<0,001	685	730
AB	2430	54	44,84	<0,001	2320	2541
AC	4063	54	74,96	<0,001	3952	4174
BC	610	54	11,26	<0,001	500	721
ABC	10881	355	30,62	<0,001	10156	11605
AB(A-B)	2158	180	11,98	<0,001	1791	2526
AC(A-C)	- 7073	180	- 39,26	<0,001	- 7441	- 6706
R <sup>2</sup>	0,9984					
R <sup>2</sup> ajustado	0,998					
p-valor (normalidade dos resíduos)	0,318					
<b>Captura do radical DPPH</b>						
(A)Água	75	4	18,17	<0,001	66	84
(B)Etanol	47	4	11,61	<0,001	39	55
(C)Acetona	65	4	15,61	<0,001	56	73
AB	364	19	19,42	<0,001	326	402
AC	563	19	30,17	<0,001	525	601
BC	67	19	3,57	0,001	29	105
AC(A-C)	- 347	59	- 5,88	<0,001	- 468	- 227
R <sup>2</sup>	0,9794					
R <sup>2</sup> ajustado	0,9756					
p-valor (normalidade dos resíduos)	0,038					
<b>Captura do radical ABTS</b>						
(A)Água	104	2	50,27	<0,001	100	108
(B)Etanol	93	2	46,28	<0,001	89	97
(C)Acetona	203	2	98,40	<0,001	199	207
AB	523	10	51,39	<0,001	503	544
AC	482	10	47,51	<0,001	461	503
BC	184	10	18,05	<0,001	163	205
ABC	- 640	67	- 9,58	<0,001	- 777	- 504
AC(A-C)	- 192	29	- 6,55	<0,001	- 252	- 133
R <sup>2</sup>	0,9957					
R <sup>2</sup> ajustado	0,9947					
p-valor (normalidade dos resíduos)	0,530					

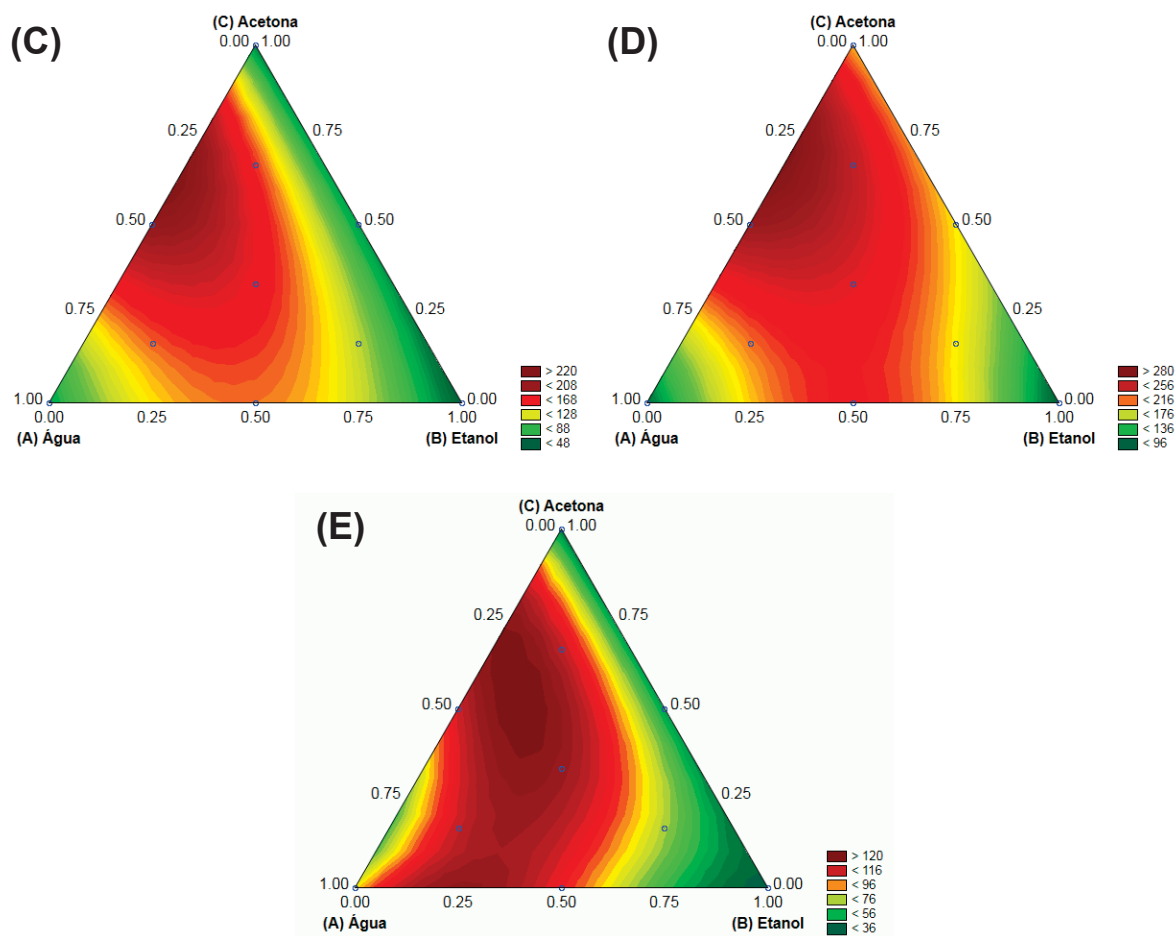
(Continua)

Potencial antioxidante de redução do ferro (FRAP)					(Continuação)	
(A)Água	86	2	53,26	<0,001	82	89
(B)Etanol	34	2	21,14	<0,001	31	37
(C)Acetona	42	2	26,07	<0,001	39	45
AB	184	8	23,37	<0,001	168	200
AC	198	8	25,09	<0,001	182	214
BC	44	8	5,56	<0,001	28	60
ABC	690	52	13,36	<0,001	585	795
AB(A-B)	234	26	9,01	<0,001	183	289
AC(A-C)	- 447	26	- 17,06	<0,001	- 500	- 393
R <sup>2</sup>	0,9926					
R <sup>2</sup> ajustado	0,9907					
p-valor (normalidade dos resíduos)	0,557					

Os efeitos dos solventes isolados, misturas binárias e ternárias em relação aos parâmetros de análises são mostradas na FIGURA 10, gráficos de superfície resposta gerados de acordo com as equações de regressão linear múltipla. Os gráficos de contorno foram gerados de acordo com as equações matemáticas para prever as interações entre os solventes e seu efeito nas variáveis resposta (TPC, TFC, DPPH, ABTS e FRAP). A interação cúbica entre os solventes mostrou influência significativa em relação aos efeitos isolados, em todos os parâmetros, no entanto, os efeitos das misturas binárias foram mais significativos. A interação entre água e acetona apresentou efeito sinérgico, seguida da interação água e etanol. Por outro lado, a interação etanol e acetona foi menos significativa nos resultados. Isso pode ser atribuído a solubilidade desses compostos em um determinado solvente. A água é capaz de extrair compostos fenólicos mais polares, enquanto a acetona extrai compostos fenólicos menos polares, resultado da sua menor polaridade (HACKE et al., 2016).

FIGURA 10 – EFEITOS DO TIPO DE SOLVENTE SOBRE O TEOR DE TPC (A), TFC (B), DPPH (C), ABTS (D) E FRAP (E) DE EXTRATOS DO RESÍDUO DA GABIROBA REPRESENTADOS POR GRÁFICO DE CONTOURNO.





Os dados obtidos a partir da MSR e regressão linear múltipla permitiram encontrar as melhores condições de extração por meio da otimização simultânea baseada na função de desejabilidade (FIGURA 11). Esse procedimento sugeriu um sistema de solvente composto por 30,4% de água, 8,3% de etanol e 61,3% de acetona para maximizar TPC, TFC, DPPH, ABTS e FRAP. O modelo estatístico apresentou um valor-*d* equivalente a 1, indicando que 100% da desejabilidade foi satisfeita. Essa nova mistura de solventes foi adotada para obtenção do extrato otimizado do resíduo da gabioba utilizando os mesmos protocolos empregados para os 10 ensaios anteriores. Uma validação experimental foi realizada com a proporção de solventes sugerida pela função de desejabilidade para testar os modelos gerados pelo MSR. Os resultados previstos e observados são apresentados na TABELA 12. Os dados experimentais permaneceram no intervalo de confiança de  $\pm 95\%$  proposto pelos modelos de regressão. Logo, os modelos foram considerados preditivos e podem ser utilizados para prever o conteúdo aproximado de compostos fenólicos e capacidade

antioxidante de extratos de resíduo de gabioba obtidos com diferentes proporções de água, etanol e acetona.

FIGURA 11 – PERFIL DE DESEJABILIDADE DA OTIMIZAÇÃO SIMULTÂNEA DO EXTRATO DO RESÍDUO DA GABIROBA (*C. xanthocarpa*) COM BASE NO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (DPPH, ABTS E FRAP).

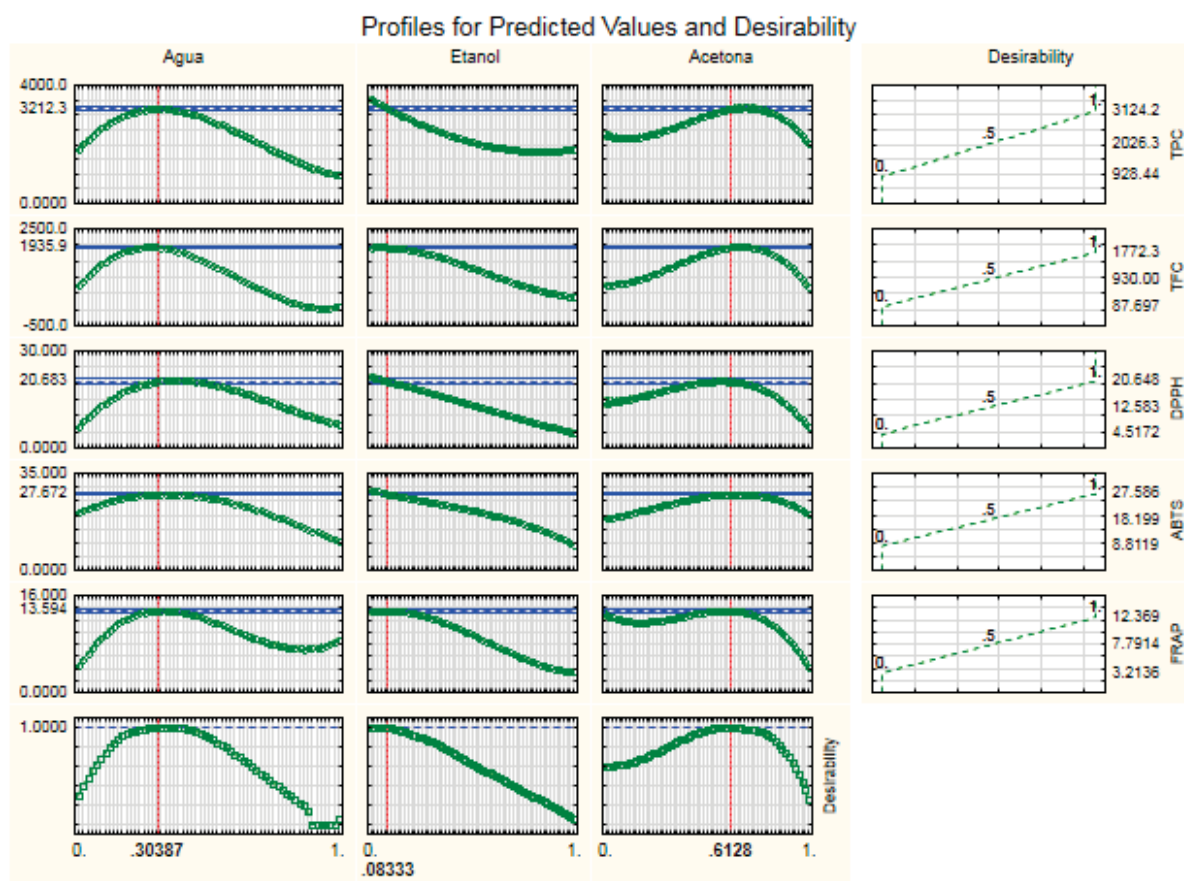


TABELA 12 – VALORES PREDITOS E EXPERIMENTAIS PARA A MISTURA DE 30,4% ÁGUA, 8,3% ETANOL E 61,3 % ACETONA.

Variáveis resposta	Valor médio predito	-95% Predição	+95% Predição	Valor experimental
Compostos fenólicos totais (mg AGE/100g)	3212	3033	3392	3192 ± 169
Flavonoides totais (mg CAT/100g)	1936	1885	1987	1958 ± 154
DPPH (µmol TE/g)	204	185	223	209 ± 1,2
ABTS (µmol TE/g)	277	268	287	281 ± 8,5
FRAP (µmol TE/g)	136	129	143	137 ± 4,4

O conjunto de dados apresentados mostra que a metodologia de superfície resposta foi satisfatória na modelagem de extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante dos extratos do resíduo da gabioba utilizando água, etanol

e acetona. Portanto, as equações de regressão linear múltiplas geradas podem ser utilizadas para prever as variáveis resposta aqui estudadas, quando o sistema de solventes utilizados for empregado.

#### 4.6. EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA

##### 4.6.1. Identificação e quantificação de compostos fenólicos

A quantificação de compostos bioativos por CLAE-DAD forneceu um perfil único de compostos fenólicos no EORG. Dentre os padrões empregados na análise, foram identificados, ácido gálico e quercetina, pertencentes as classes dos ácidos fenólicos e flavonoides, respectivamente. Suas concentrações são apresentadas na TABELA 13. Esses compostos são minoritários do EORG e somados correspondem a 11% do teor total de compostos fenólicos ( $31,92 \text{ mg.g}^{-1}$ ). O cromatograma (FIGURA 12) apresentou um total de 11 picos e os demais picos observados na análise ainda são desconhecidos e suas identidades requerem um estudo mais aprofundado. A catequina, epicatequina e ácido clorogênico, não foram identificados no EORG.

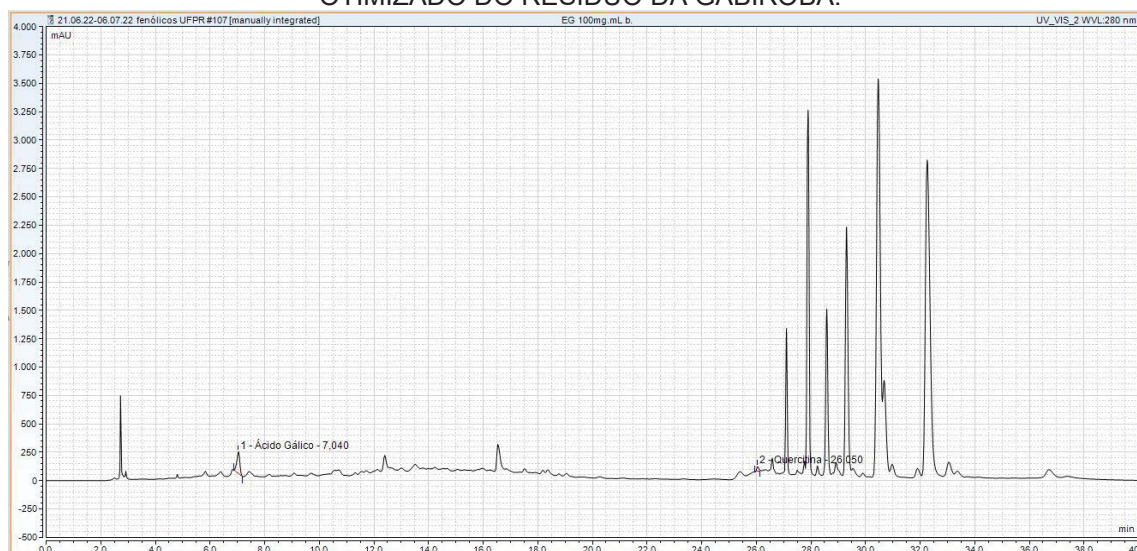
TABELA 13 – COMPOSTOS FENÓLICOS IDENTIFICADOS NO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA (*Campomanesia xanthocarpa*).

Composto	Extrato otimizado do resíduo da gabiropa ( $\mu\text{g/mL}$ )
<b>Ácidos fenólicos</b>	
Ácido gálico	$29,75 \pm 1,34$
<b>Flavonoides</b>	
Quercetina	$334,05 \pm 49,25$

A obtenção de compostos fenólicos de materiais vegetais é influenciada pela solubilidade desses compostos no solvente utilizado no processo de extração e a polaridade do solvente desempenha um papel fundamental no aumento da solubilidade (HAMINIUK et al., 2014). Os flavonoides são menos solúveis em água que os ácidos fenólicos devido sua hidrofobicidade (DONG et al., 2023), portanto a mistura de solventes contendo acetona pode ter favorecido a obtenção desses compostos. Flavonoides polares, como agliconas mais polares ou flavonoides glicosilados, têm afinidade por solventes como álcoois aquosos e puros, enquanto suas contrapartes não polares, como isoflavanos, flavanonas, flavonas e flavonóis, têm afinidade por solventes como acetona, clorofórmio, diclorometano, éter dietílico e

acetato de etila (FERREIRA; PINHO, 2012; LUNA; RAMÍREZ-GARZA; SALDÍVAR, 2020).

FIGURA 12 – CROMATOGRAMA CLAE-DAD DOS COMPOSTOS PRESENTES NO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA.



A presença do ácido gálico e quercetina já foi documentada em extratos aquosos das folhas de *C. xanthocarpa* (KLAFKE et al., 2016; PASTORI et al., 2013; SOUSA et al., 2019). Nesses extratos foram encontrados maior teor de ácidos fenólicos como ácido rosmarínico, ácido elágico, ácido cafeico, ácido clorogênico, além de rutina e kaempferol (KLAFKE et al., 2016; PASTORI et al., 2013; SOUSA et al., 2019), enquanto um estudo com frutos maduros e imaturos de gabioba apresentou mais flavonoides, como a catequina (ARCARI et al., 2020). Compostos como a quercetina, ácido gálico e kaempferol são encontrados em maior concentração nas frutas maduras (ARCARI et al., 2020).

No que diz respeito aos ácidos fenólicos e flavonoides, estudos mostraram o efeito da quercetina na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, câncer e insuficiência renal e hepática. Essas ações podem estar ligadas à capacidade de manutenção da integridade vascular devido ao sequestro de radicais livres e à inibição da atividade da peroxidação lipídica, da lipoxigenase, da ciclooxigenase e da fosfolipase. Além da ação antioxidante, o ácido gálico também tem atividades de sensibilização à insulina, reduz a hiperglicemia por vários mecanismos e tem um efeito cardioprotetor (SANT'ANNA et al., 2017).

De acordo com Sousa et al., (2019), os compostos fenólicos identificados nos extratos aquosos, principalmente ácido elágico e rosmarínico, podem ter influenciado

a resposta antioxidante ao radical DPPH, efeitos protetores contra o dano oxidativo do DNA nas células sanguíneas e redução dos níveis de peroxidação lipídica e aumento da superóxido dismutase. Indivíduos hipercolesterolêmicos que suplementaram as folhas da gabiroba encapsulada apresentaram redução nos níveis do colesterol total e colesterol LDL, além de reduzir o estresse oxidativo e processos inflamatórios nos indivíduos (VIECILI et al., 2014). Outros estudos demonstraram o potencial de extratos aquosos das folhas da gabiroba em reduzir a glicemia e o ganho de peso em ratos (BIAVATTI et al., 2004). Esses estudos demonstram a importância da obtenção dessas biomoléculas e estimulam mais pesquisas acerca das propriedades que justificam o uso da *C. xanthocarpa* na medicina popular.

#### 4.6.2. Atividade antimicrobiana

As populações indígenas e rurais utilizam folhas e frutos da gabirobeira para tratar feridas, sintomas associados a gripe, febre, diarreias e problemas do trato urinário (MOURA-COSTA et al., 2012; RAPHAELLI et al., 2021), problemas frequentemente relacionados a infecções fúngicas e bacterianas. A capacidade de um extrato vegetal em inibir o crescimento de microrganismos patógenos, confere a ele propriedade antimicrobiana e diversos benefícios a saúde.

O potencial antimicrobiano do extrato otimizado do resíduo da gabiroba foi testado contra 5 microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Candida albicans*), obtendo-se um resultado positivo para 3 (TABELA 14). O antibiótico (ciprofloxacino) utilizado como controle positivo foi efetivo na inibição de todas as bactérias testadas, assim como o antifúngico padrão (nistatina) foi efetivo contra a *C. albicans*. Pelo método de difusão em ágar observou-se maior suscetibilidade das bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *B. cereus*) e *C. albicans* ao EORG. A concentração de 0,243 mg.mL<sup>-1</sup> de extrato foi suficiente para inibir e eliminar *B. cereus* pelo método de microdiluição. A *C. albicans* também apresentou o mesmo valor para a MIC e MBC (0,976 mg.mL<sup>-1</sup>). O *S. aureus* foi menos sensível aos agentes bacterianos presentes no extrato, necessitando de maior concentração para que houvesse inibição do seu crescimento (MBC: 3,9 mg.mL<sup>-1</sup>; MIC: 1,95 mg.mL<sup>-1</sup>).

TABELA 14 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA AVALIADA PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR E DE MICRODILUIÇÃO.

Microrganismos testados		Controle positivo		EORG		
		Halo de inibição (mm)	MIC ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Halo de inibição (mm)	MIC ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	MBC ( $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
Gram-positiva	<i>S. aureus</i> <sup>a</sup>	20 ± 0,6	250	14,1 ± 0,9	1,950	3,900
	<i>B. cereus</i> <sup>b</sup>	20,9 ± 0,93	125	10,5 ± 0,9	0,243	0,243
Gram-negativa	<i>E. coli</i> <sup>c</sup>	32,6 ± 0,99	< 32	ND	ND	ND
	<i>S. enterica</i> <sup>d</sup>	29,2 ± 0,75	32	ND	ND	ND
Levedura	<i>C. albicans</i> <sup>e</sup>	15,5 ± 0,5	1000	11,5 ± 0,2	0,976	0,976

ND, não detectado; MIC, concentração inibitória mínima; MBC, concentração bactericida mínima; <sup>a</sup>*Staphylococcus aureus*, <sup>b</sup>*Bacillus cereus*, <sup>c</sup>*Escherichia coli*, <sup>d</sup>*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, <sup>e</sup>*Candida albicans*.

Estudos anteriores indicaram a ação antimicrobiana de extratos de diferentes espécies de *Campomanesia* contra esses microrganismos. Achados semelhantes foram encontrados por Moura-Costa et al. (2012), investigando a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos (50 e 70%) e aquosos de folhas de *C. eugenioides* que também apresentaram atividade contra *S. aureus* e *C. albicans* (MIC: 0,24 – 250  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Extratos hexânicos dos frutos de *C. adamantium* e *C. pubescens* apresentaram efeito inibitório para *S. aureus*, *C. albicans* e *E. coli*, dentre outros, em concentrações que variaram de 5 a 20  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  (CARDOSO et al., 2010).

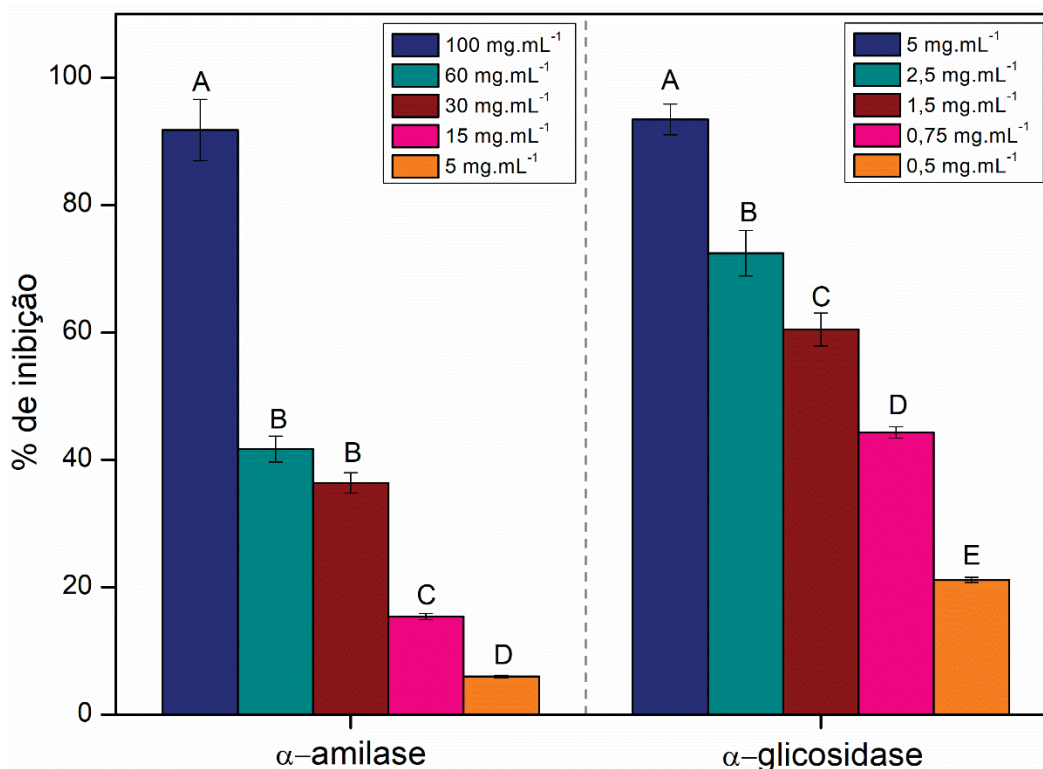
Somente os testes de controle positivo com ciprofloxacino apresentaram atividade contra as bactérias Gram-negativas *E. coli* e *S. enterica*. Um resultado semelhante foi observado para extratos de semente da gabioba obtidos com fluidos supercríticos que também não apresentaram atividade antimicrobiana contra *E. coli*, mas inibiram o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*, outra bactéria Gram-negativa resistente, em concentrações que variaram de 5 a 40  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (CAPELETTO et al., 2016). As bactérias Gram-negativas, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. typhimurium*, foram completamente resistentes aos extratos dos frutos da gabioba obtidos com CO<sub>2</sub> supercrítico (CZAIKOSKI et al., 2015). Por outro lado, Etgeton et al. (2023) observaram um nível de inibição da *E. coli* frente a extratos etanólicos (80%) da polpa de gabioba liofilizada comparáveis ao controle positivo (1,9  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), além do efeito inibitório contra *P. aeruginosa*. É possível que a maior resistência das bactérias Gram-negativas encontrada para EORG esteja relacionada à sua sofisticada barreira de permeabilidade em comparação com a membrana celular mais simples das bactérias

Gram-positivas. Essa barreira adicional é permeável aos nutrientes, ao mesmo tempo que restringe o acesso da maioria das moléculas (BACH et al., 2019). Essa barreira é um dos grandes problemas enfrentados pela indústria farmacêutica no desenvolvimento de fármacos que sejam igualmente efetivos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (OLIVEIRA et al., 2016).

A atividade antimicrobiana, dentre outras propriedades, foi atribuída à presença de substâncias como flavonoides e ácidos fenólicos, frequentemente identificados nas frações de *C. xanthocarpa* (SILVA; KEMPKA, 2023). A literatura relata que a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais pode estar relacionada às condições de cultivo das plantas, uma vez que os componentes ativos, geralmente substâncias fenólicas, são sintetizados em resposta ao estresse, como ataque de microrganismos (OLIVEIRA et al., 2016). Estudos anteriores indicaram que certos ácidos fenólicos, como os ácidos gálico, cafeico e ferulico, exibiram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativa (ETGETON et al., 2023). Bach et al. (2019) relataram propriedades antimicrobianas de extratos de diversas espécies de cogumelos e observaram que aqueles que não apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias Gram-positivas também não continham ácido gálico, cafeico e a quercetina em sua composição química. Os compostos fenólicos identificados ou não no EORG podem expressar essa propriedade agindo sinergicamente por meio de sua atividade antioxidante, reduzindo a incidência da proliferação de microrganismos deteriorantes e patogênicos (PRESTES et al., 2022). Acredita-se que o mecanismo de ação da atividade antibacteriana da quercetina seja devido à inibição de proteínas sintases transportadoras que estão envolvidas na síntese bacteriana de ácidos graxos (AZEEM et al., 2023), enquanto o ácido gálico produz alterações nas propriedades de permeabilidade da membrana bacteriana, por meio de ligações de hidrogênio, causando sua ruptura ou formação de poros com consequente vazamento da conteúdo intracelular ou coagulação do seu conteúdo (BACH et al., 2019).

#### 4.6.3. Atividade inibitória da enzima $\alpha$ -amilase

A inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase foi avaliada para verificar o potencial antiglicêmico do EORG. A inibição das enzimas apresentou um comportamento dependente da dose proporcional, quanto maior a concentração testada, maior a capacidade de inibição (FIGURA 13).

FIGURA 13 – INIBIÇÃO DA ENZIMA  $\alpha$ -AMILASE E  $\alpha$ -GLICOSIDASE FRENTE AO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA.

As enzimas foram submetidas a tratamentos com concentrações crescentes do EORG: 5 a 100 mg.mL<sup>-1</sup> para inibição da  $\alpha$ -amilase e 0,5 a 5 mg.mL<sup>-1</sup> para inibição de  $\alpha$ -glicosidase. Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão de pelo menos três experimentos independentes. As curvas de inibição foram plotadas usando o software OriginPro 8.5.

Para a enzima  $\alpha$ -amilase, na concentração de 5 mg.mL<sup>-1</sup> a inibição foi de 6%, aumentando para 15% e em seguida para 36% de acordo com a concentração. O aumento na concentração de 60 para 100 mg.mL<sup>-1</sup> resultou em um aumento no percentual de inibição de 40 para 91%. Em termos de inibição da  $\alpha$ -glicosidase, a concentração de 5 mg.mL<sup>-1</sup> foi suficiente para inibir 93% da atividade enzimática, frente aos 6% de inibição da  $\alpha$ -amilase nesta mesma concentração. Na menor concentração testada (0,5 mg.mL<sup>-1</sup>), houve ainda 20% de inibição da enzima  $\alpha$ -glicosidase.

Concentrações muito maiores do EORG foram necessárias para obter resultados próximos a esses na inibição da  $\alpha$ -amilase (15% de inibição: 15 mg.mL<sup>-1</sup>; 91% de inibição: 100 mg.mL<sup>-1</sup>). Esses resultados mostram que a enzima  $\alpha$ -glicosidase foi mais suscetível ao EORG uma vez que concentrações menores do extrato apresentaram maiores percentuais de inibição – informação confirmada pelos valores de IC<sub>50</sub> que foram 46,6  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> de reação e 1471,5  $\mu$ g.mL<sup>-1</sup> de reação para  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase, respectivamente. Um resultado contrário foi observado por

Etgeton et al., (2023) para os extratos de frutos da gabiroba liofilizado que apresentou maior potencial de inibição para a enzima  $\alpha$ -amilase. Os autores observaram que os extratos atingiram 100% de inibição da  $\alpha$ -amilase na concentração de 38  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$  com  $\text{IC}_{50}$  de 15,9  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ , enquanto resultados inferiores a 15% de inibição da  $\alpha$ -glicosidase foram obtidos em concentrações ainda maiores (57-111  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ ) (ETGETON et al., 2023).

Os resultados de potencial antidiabético do EORG podem estar relacionados a presença do ácido gálico, quercetina e outros compostos que constituem o extrato. Os flavonoides são um grupo típico de compostos bioativos naturais extraídos com atividade hipoglicemiante. Alguns estudos *in vitro* forneceram evidências de que flavonoides derivados de plantas podem inibir a atividade da  $\alpha$ -amilase, principalmente devido aos seus efeitos na estrutura e estabilidade das enzimas (SHEN et al., 2022). Tian et al., (2021) avaliaram o potencial inibitório de compostos flavonoides isolados de extratos de framboesa e obtiveram um  $\text{IC}_{50}$  de 14 e 10  $\mu\text{mol/L}$  para a  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, respectivamente, quando o composto testado foi a quercetina, enquanto a acarbose, fármaco utilizado para reduzir a glicemia, apresentou  $\text{IC}_{50}$  inferior a 2  $\mu\text{mol/L}$ . Neste mesmo estudo, os autores verificaram que os flavonoides com maior atividade inibitória da enzima apresentaram forte ligação com os sítios ativos das enzimas e mostraram efeitos hipoglicêmicos quando administrados em camundongos com altas doses de glicose.

O EORG pode ser empregado para regular a absorção de carboidratos, sendo utilizado terapeuticamente no tratamento oral de diabetes tipo 2. A atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase no intestino delgado se correlaciona com um aumento nos níveis de glicose pós-prandial, cujo controle é, portanto, um aspecto importante no tratamento do diabetes tipo 2 (KAJARIA et al., 2013). Os inibidores dessas enzimas retardam a digestão de carboidratos causando uma redução na taxa de absorção de glicose e diminuindo os níveis de glicose sérica pós-prandial (CHIGURUPATI et al., 2021).

O potencial antiglicêmico da *C. xanthocarpa* já foi demonstrado na literatura, principalmente com estudos *in vivo*. Um trabalho com ratos diabéticos mostrou que o tratamento com decocção de folhas (20 g/L) por 3 semanas diminuiu os níveis de glicose no sangue, inibiu a degradação do glicogênio hepático e preveniu alterações histopatológicas no pâncreas e rim. Ao final do tratamento, os ratos diabéticos que receberam o chá apresentaram redução de 26% na glicemia em relação ao grupo

diabético não tratado (VINAGRE et al., 2010). Esses resultados foram consistentes com a descrição de Biavatti et al., (2004), que relataram redução de 15% no nível de glicose plasmática de ratos obesos (induzidos com dieta hipercalórica) tratados com extrato aquoso das folhas. O extrato das sementes de *C. xanthocarpa* foi capaz de reduzir os níveis de glicose sanguínea e aumentar o conteúdo de glicogênio hepático e muscular em ratos, bem como inibir a atividade da maltase e sacarase, sendo considerado eficaz no tratamento do diabetes (REGGINATO et al., 2021).

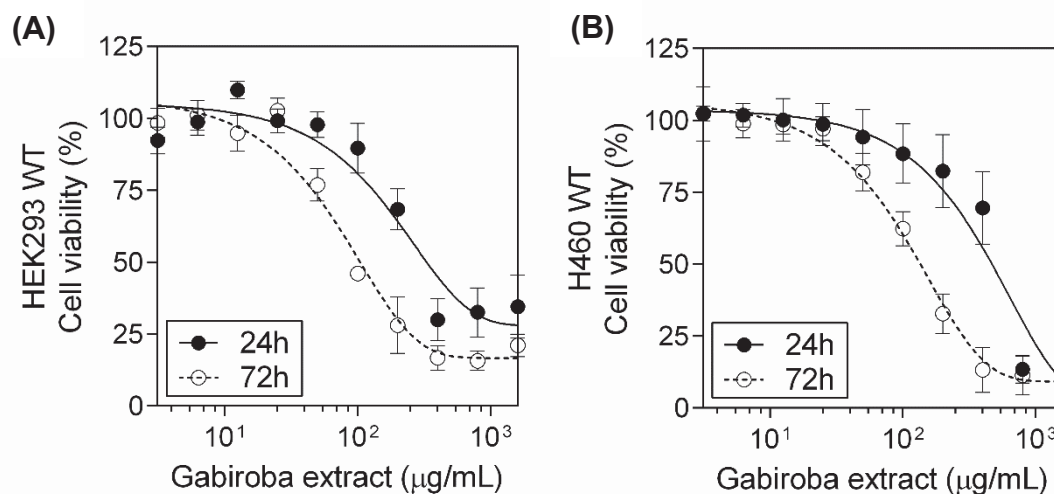
Extratos de subprodutos do amendoim e da uva testados em concentrações de 10 mg/mL, apresentaram inibição da  $\alpha$ -amilase superior a 70% e os autores relacionaram esse resultado com o conteúdo de compostos fenólicos (FERNANDES et al., 2020). Uma correlação positiva também foi encontrada entre a inibição da  $\alpha$ -amilase e compostos fenólicos de extratos de subprodutos da vinificação. Os principais compostos identificados foram ácido gálico, catequina e isorhamnetina (CAMARGO et al., 2016).

Fitocompostos originados de diversas plantas medicinais, por exemplo, flavonoides, fenóis, alcaloides, saponinas, taninos, terpenoides, glicolipídios, glicosídeos e carotenoides, são conhecidos por possuir atividade antidiabética produtiva (CHIGURUPATI et al., 2021). O perfil pronunciado na inibição da enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase por parte de extratos de *C. xanthocarpa*, demonstrado no presente trabalho e na literatura, é um indicativo do potencial dessa espécie para o tratamento de diabetes tipo 2.

#### 4.6.4. Citotoxicidade *in vitro*

A avaliação da toxicidade é um parâmetro importante a ser medido em estudos de plantas com perspectiva de utilização na indústria farmacêutica. O efeito citotóxico do EORG foi avaliado em linhagens de células HEK293 (fibroblasto humano) e H460 (câncer de pulmão) e apresentou toxicidade dependente da concentração e do tempo de exposição (FIGURA 14).

FIGURA 14 – CURVAS DE VIABILIDADE IG<sub>50</sub> E PERFIL CITOTÓXICO DO EXTRATO OTIMIZADO DO RESÍDUO DA GABIROBA. (A) LINHAGEM DE FIBROBLASTO HUMANO (HEK293 WT), (B) LINHAGEM DE CANCER DE PULMÃO (H460 WT).



Células HEK293 tipo selvagem (A) e H460 tipo selvagem (B) foram submetidas a tratamentos de médio e longo prazo (24 e 72 horas, respectivamente) com concentrações crescentes dos compostos (3, 125 - 1600  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão de, pelo menos, três experimentos independentes. As curvas de viabilidade foram ajustadas utilizando o software GraphPad Prism 6.

A resposta do EORG foi mais citotóxica para a linhagem de células saudáveis HEK293, quando comparada as células tumorais de pulmão. Segundo Moura et al. (2021) uma amostra é considerada citotóxica quando a viabilidade celular é inferior a 70%. Para as células H460, a viabilidade foi superior a 70% até 400  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , após 24 horas de exposição. Essa concentração caiu pela metade quando se avaliou a linhagem HEK293, para a qual a porcentagem de células metabolicamente ativas foi aproximadamente 70% até 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . No tratamento a longo prazo (72h) concentrações acima de 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  foram suficientes para reduzir a viabilidade para valores inferiores a 70%, indicando maior suscetibilidade de ambas linhagens celulares ao período mais longo de exposição.

O tratamento a longo prazo foi mais eficiente contra as células HEK293 ( $\text{IG}_{50} = 72,5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Para as células H460, o  $\text{IG}_{50}$  após 72 horas de exposição foi de 108,3  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , um aumento de 50% quando comparado aos fibroblastos. Um resultado semelhante com o tratamento a médio prazo (24h) foi observado, o qual apesar de ser menos tóxico, apresentou  $\text{IG}_{50}$  de 440,2  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  para as células H460, 2,4 vezes maior ao  $\text{IG}_{50}$  das células HEK293 (183,2  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

Neste estudo, as células H460 apresentaram maior resistência ao EORG. O câncer de pulmão é um câncer altamente invasivo, de metástase rápida e prevalente em homens e mulheres. No Brasil, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer, as

maiores taxas de incidência de câncer de pulmão até 2025, será no Sul do País. A estimativa é de que o estado do Paraná apresente 12,80 casos por 100 mil habitantes. Além disso, o câncer de pulmão será o quinto tumor maligno (4,6%) mais incidente no Brasil, perdendo apenas para o câncer de pele não melanoma (31,3%), câncer de mama feminina (10,5%), próstata (10,2%) e cólon e reto (6,5%) (INCA, 2022).

Se tratando do principal problema de saúde pública no mundo, figurando como uma das principais causas de morte, pesquisas dedicadas ao tratamento do câncer e descoberta de novos medicamentos são essenciais. Compostos como polifenóis, terpenoides e alcaloides relatados em extratos de plantas demonstram propriedades antiproliferativas e anticancerígenas. Esses extratos vegetais são amplamente empregados em diversos setores, portanto, a avaliação da citotoxicidade é fundamental para a determinação de concentrações não citotóxicas nas quais podem ser usados com segurança (SOWA et al., 2020). Entre as diversas categorias de tratamento do câncer, a terapia alvo/direcionada e a fitoterapia tem se desenvolvido como uma estratégia importante, considerando que grande parte da população depende de plantas medicinais para conservar a sua saúde e que até 60% dos fármacos utilizados na terapia anticâncer são derivados de produtos naturais (ABDALLA et al., 2022; SHAKERI et al., 2020). No entanto, uma característica importante no desenvolvimento de novos tratamentos anticâncer é a toxicidade seletiva, uma vez que os efeitos adversos observados com medicamentos convencionais resultam da toxicidade para células saudáveis (SAIBU et al., 2015).

O EORG não apresentou seletividade pelas células tumorais de pulmão. A segurança toxicológica do extrato está presente em concentrações mais baixas, que não foram eficientes em reduzir a viabilidade das células tumorais. Esse é o primeiro estudo que reporta a proliferação de células humanas normais e cancerígenas tratadas com extrato do resíduo da gabioba. Os trabalhos disponíveis na literatura que avaliaram o efeito citotóxico de outras partes de *C. xanthocarpa* observaram efeitos contrários aos observados para o EORG. Vale ressaltar que os resultados apresentados estão relacionados ao extrato bruto, sem purificação, que corresponde a uma mistura complexa de compostos químicos, sendo necessário mais estudos para determinar a toxicidade de extratos do resíduo da gabioba avaliando outras linhagens celulares.

#### 4.7. CONCLUSÃO

A mistura dos solventes água, etanol e acetona foi significativa na obtenção de extratos do resíduo da gabioba. A metodologia de superfície resposta foi eficaz na avaliação dos efeitos dos solventes sobre a composição química e capacidade antioxidante, fornecendo modelos satisfatórios e preditivos. O sistema de solventes proposto para otimização do processo foi constituído de 60,3% de acetona, 30,4% de água e 8,3% de etanol que permitiu maximizar a extração de compostos fenólicos e capacidade antioxidante. O extrato otimizado do resíduo da gabioba apresentou elevado teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante dentro dos intervalos previstos pelo modelo.

A composição fenólica do EORG foi avaliada por CLAE-DAD e o ácido gálico e quercetina foram identificados e quantificados por essa técnica. O EORG possui potencial antioxidante, antimicrobiano e antiglicêmico, mas não apresentou potencial para terapia anticâncer. A atividade antiglicêmica foi constatada pela inibição de mais de 90% da atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase. O EORG foi efetivo contra as bactérias *S. aureus* e *B. cereus* e a levedura *C. albicans*.

Considerando a relativa segurança toxicológica dos EORG e dos compostos individuais identificados, os resultados podem ser utilizados em trabalhos futuros para isolamento dos constituintes químicos que estão associados ao potencial funcional dos extratos, sendo necessário mais estudos para aplicação do extrato bruto em modelos alimentares e farmacêuticos. Além disso, este trabalho contribui para dar destaque a gabioba, seu resíduo e aos produtos obtidos de ambos, valorizando a espécie, incentivando seu uso comercial e industrial e movimentando a economia de cooperativas no interior do estado do Paraná.

### Seção III – Óleo do resíduo da gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*): caracterização e propriedades biológicas

#### 4.8. RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS

Os parâmetros físico-químicos dos óleos obtidos do resíduo da gabiroba (ORG) utilizando Soxhlet com hexano (SE-H) e éter de petróleo (SE-EP) e a extração assistida por ultrassom (UAE-H) são apresentados na TABELA 15. O rendimento de extração na UAE-H foi de 36.4%, semelhante a SE-H (35.6%). O óleo obtido por SE-EP apresentou um rendimento inferior de 32,7% e, considerando que razão sólido/líquido e tempo de extração foram os mesmos, a comparação do solvente nos efeitos da extração de óleo do resíduo da gabiroba utilizando Soxhlet podem ser atribuídos à polaridade do solvente.

TABELA 15 – PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DO RESÍDUO DA GABIROBA.

Processo de extração	SE-H	SE-EP	UAE-H
Rendimento (%)	35.6 ± 0.2 <sup>a</sup>	32,7 ± 0.9 <sup>b</sup>	36.4 ± 0.7 <sup>a</sup>
Índice de acidez (%)	14.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	14.1 ± 0.5 <sup>a</sup>	12.5 ± 0.2 <sup>b</sup>
Índice de refração	1.4894 ± 0.0001 <sup>a</sup>	1.4886 ± 0.0006 <sup>a</sup>	1.4802 ± 0.0006 <sup>b</sup>
Densidade (Kg.m <sup>-3</sup> )	932.4	931.1	922.8

SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano; Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

A UAE utiliza as forças de cavitação produzidas por ondas acústicas para decompor as paredes celulares, liberando assim os componentes intracelulares no solvente (TAN et al., 2018). A extração das matérias-primas por Soxhlet é influenciada por fatores como tempo de extração, condições de temperatura, escolha do solvente, ciclos de extrações e as interações solvente/soluto que afetam o rendimento de extração (STAVROU; CHRISTOU; KAPNISSI-CHRISTODOULOU, 2018). Em seu ponto de ebulição, a tensão superficial e viscosidade do solvente são bastante reduzidas, portanto, o solvente pode atingir os sítios ativos dentro da matriz com muito mais facilidade, contribuindo para solubilização do composto de interesse (MARKOM et al., 2007). Por outro lado, a técnica de ultrassom foi aplicada devido à sua, eficiência, baixo custo e versatilidade nas diversas áreas de aplicação (BARRA et al., 2021), além de não necessitar de altas temperaturas e reduzir o tempo de extração,

preservando os compostos presentes nas matrizes vegetais (MOHAMMADPOUR et al., 2019). No trabalho desenvolvido por Tan et al. (2018), a aplicação da UAE para obtenção de óleo de abacate resultou em maior rendimento e maior teor de ácido graxo insaturado. UAE também aumentou a eficiência de extração do óleo de canola em comparação ao método Soxhlet (JALILI et al., 2018).

O índice de acidez do óleo obtido por UAE-H foi de 12,5%, frente aos valores de 14,4 e 14,1% dos óleos obtidos por SE-H e SE-EP, respectivamente, cerca de 14% superior. O maior índice de acidez apresentado pelo Soxhlet pode ser resultado das temperaturas mais elevadas empregadas no processo de extração, que contribuem para o aumento da rancidez hidrolítica do óleo, com consequente desesterificação dos ácidos graxos e aumento das concentrações de ácidos graxos livres (CRUZ et al., 2020). Nesse sentido, a UAE resultou em um óleo de melhor qualidade, uma vez que o índice de acidez indica a decomposição do óleo com base na quantificação do teor de ácidos graxos livres e deve ser o mais baixo possível (SERRA et al., 2019).

A temperatura empregada no processo de extração por Soxhlet pode afetar a densidade do óleo devido as reações de oxidação e polimerização (RUBALYA VALANTINA, 2021). Isso foi observado para o ORG que apresentou densidade de 922,8 Kg.m<sup>-3</sup> quando obtido por UAE-H, aumentando para 932,4 Kg.m<sup>-3</sup> e 931,1 Kg.m<sup>-3</sup> quando obtido por SE-H e SE-EP, respectivamente. O mesmo foi observado na extração do óleo da semente de cumaru por Soxhlet (909 Kg.m<sup>-3</sup>) que apresentou aumento de densidade em relação ao óleo obtido do propano comprimido (904 Kg.m<sup>-3</sup>) (FETZER et al., 2021). Além disso, os valores de densidade obtidos para ORG são próximos aos encontrados para os óleos de girassol (921 Kg.m<sup>-3</sup>), colza (920 Kg.m<sup>-3</sup>) (YAN et al., 2019) e mostarda (940 Kg.m<sup>-3</sup>) (ZAHIR et al., 2017).

O índice de refração para o óleo obtido por UAE foi ligeiramente menor (1,4802) quando comparado aos resultados obtidos pela extração com Soxhlet (1,4894 e 1,4886, para SE-H e SE-EP, respectivamente). Esta propriedade consiste na resistência oferecida à luz em passar por um meio líquido. Os óleos de soja e girassol apresentam valores em torno de 1,47 (VOLLI; PURKAIT, 2014). Em geral, o IR de gorduras e óleos está relacionado ao seu grau médio de insaturação. Também é útil para observar o progresso de reações como hidrogenação e isomerização (ABDUL-HAMMED et al., 2020). Este parâmetro também pode indicar a possibilidade de desenvolvimento de ranço em óleos e gorduras. Quanto maior o índice de refração, maior a chance de deterioração por oxidação (SARKAR et al., 2015).

## 4.9. CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA

### 4.9.1. Composição química

A composição química dos óleos do resíduo da gabioba (ORG) é apresentada na TABELA 16. A análise de CG-EM identificou mais de 40 compostos presentes nos extratos. Os ácidos graxos representaram mais de 50% do total de compostos identificados. No caso dos óleos obtidos com hexano (SE-H e UAE-H), essa proporção foi superior a 75%. Os demais compostos detectados pela CG-EM são da classe dos terpenos, a maior parte sesquiterpenos, sendo alguns deles observados anteriormente nas frações voláteis de sementes e frutos de *C. xanthocarpa* (CAPELETTO et al., 2016; CZAIKOSKI et al., 2015; VALLILO et al., 2008). Esses compostos correspondem aproximadamente a 18% e 14% da composição dos óleos SE-H e UAE-H, aumentando essa proporção para 40% no óleo SE-EP.

Os principais ácidos graxos encontrados nos ORG seguem a ordem ácido oleico (C18:1) > ácido palmítico (C16:0) > ácido linoleico (C18:2), para os óleos SE-H e UAE-H, e ácido palmítico (C16:0) > ácido oleico (C18:1) > ácido linoleico (C18:2) para o óleo SE-EP. Os ácidos oleico, palmítico e linoleico foram previamente identificados como principais ácidos graxos no óleo de semente de *C. xanthocarpa*, com 60,8%, 13,9% e 14,1%, respectivamente (SANTOS et al., 2012a), corroborando com o presente trabalho. Santos et al. (2012a) também identificaram ácidos graxos poliinsaturados como ácido linolênico (C18:3) e araquidônico (C20:4) e saturados como ácido esteárico, eicosanoico e lignocérico (C24:0), entre outros. Essa composição de ácidos graxos foi mais diversificada quando comparada aos óleos obtidos neste trabalho. Além disso, os autores não identificaram a presença de terpenos. Essas diferenças podem ser atribuídas a natureza da amostra, uma vez que neste trabalho foi utilizado o resíduo integral da gabioba (casca, semente, cálice), separado mecanicamente e contendo polpa residual.

TABELA 16 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS OBTIDAS DO RESÍDUO DA GABIROBA.

<b>Ácidos graxos (%)</b>	<b>SE-H</b>	<b>SE-EP</b>	<b>UAE-H</b>
Ácido mirístico (C14:0)	0,59	-	0,28
Ácido palmitoleico (C16:1)	3,78	2,08	3,24
Ácido palmítico (C16:0)	28,28	22,37	18,05
Ácido linoleico (C18:2)	5,61	5,78	5,25
Ácido oleico (C18:1)	35,01	19,88	46,36
Ácido elaídico (C18:1)	2,97	1,50	2,42
Ácido esteárico (C18:0)	2,25	2,18	1,68
Ácido eicosanóico (C20:0)	0,19	-	-
Ácidos graxos (%)	78,68	53,79	77,28
Saturado	31,31	24,55	20,01
Insaturado	47,37	29,24	57,27
<b>Terpenos (%)</b>	<b>SE-H</b>	<b>SE-EP</b>	<b>UAE-H</b>
β-Cadineno	4,36	8,37	2,53
β-Patchouleno	0,18	0,31	0,16
γ-Gurjuneno	0,38	-	-
Isoledeno	1,45	0,39	2,55
α-Copaeno	0,12	2,31	1,58
α-Calacoreno	-	0,17	-
β-Malieno	0,46	1,73	1,75
Valenceno	0,42	1,18	-
γ-Selineno	1,84	3,27	1,23
α-Neocloveno	-	-	0,30
α-Muuroleno	1,85	1,31	0,28
D-Guaieno	-	0,24	-
α-Cubebeno	-	1,72	-
γ-Maliene	0,18	-	-
α-Gurjuneno	0,11	-	-
Cis-Calamenene	0,51	0,68	0,36
γ-Muuroleno	0,43	3,94	-
Selina-3,7(11)-diene	0,12	2,11	0,37
4,11-selinadieno	-	1,90	-
Guaia-3,9-diene	-	0,28	0,25
δ-Cadineno	1,12	-	1,31
β-Gurjuneno	0,40	-	-
Ambrox	0,48	0,96	0,49
Cloveno	2,32	5,57	-
Aristoleno	0,27	0,63	0,27
α-Cadineno	0,62	-	-
Eudesmol	0,20	-	-
7-epi-α-Eudesmol	-	1,18	-
γ-Eudesmol	-	-	0,53
Álcool cariofilênico	-	0,17	-
Guaiol	-	0,31	0,16
Aloaromadendreno	-	0,50	-
Aristoluqueno	-	-	0,18
Pinocembrina	0,44	-	-
Terpenos (%)	18,26	39,23	14,30
Total identificado (%)	<b>SE-H</b> 96,94	<b>SE-EP</b> 93,02	<b>UAE-H</b> 91,58

SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-PE, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano. Valores expressos em porcentagem de área.

O óleo obtido pela UAE-H apresentou um teor de ácidos graxos insaturados de 57%, 2 vezes maior ao obtido pelo óleo SE-EP (29%). A extração com UAE-H também resultou em um aumento de 21% de ácido graxos insaturados quando comparado ao SE-H (47%). Os ácidos graxos monoinsaturados representam o principal grupo de ácidos graxos no GRO. O ácido oleico foi identificado em níveis de 20%, 35% e 46% para SE-EP, SE-H e UAE-H, respectivamente. As extrações realizadas com hexano, apresentaram predominância de ácido oleico, seguida pelo ácido palmítico. Em contrapartida, no óleo SE-EP houve predominância do ácido palmítico (22%). Isso demonstra que o emprego do hexano como solvente e da técnica de ultrassom favoreceram a obtenção do ácido oleico. Ácidos graxos também foram encontrados em pequenas proporções na fração volátil da polpa de gabioba extraída por microextração em fase sólida sendo o mais abundante o ácido palmítico (5,2%) (FERREIRA et al., 2016). Os ácidos graxos monoinsaturados e saturados apresentam maior resistência a temperaturas mais altas e ao ranço do que os ácidos graxos poli-insaturados (MOHAMMADPOUR et al., 2019). O teor de ácido oleico presente no óleo o torna interessante para uso na indústria alimentícia como possível ingrediente em margarinas ou alimentos que são aquecidos devido ao seu alto potencial de estabilidade frente à oxidação (CRUZ et al., 2020; SERRA et al., 2019).

A composição de ácidos graxos do GRO também inclui ácido linoleico, o único ácido graxo poli-insaturado encontrado que corresponde em média a 5,5% do óleo. O ácido linoleico pertence à classe ômega 6 ( $\omega$ -6) e, segundo a FAO/OMS, os grupos  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 são considerados nutrientes essenciais e podem afetar a prevalência e gravidade de doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e declínio funcional relacionado à idade (FAO, 2010). Pequenas quantidades de ácidos mirístico, esteárico e eicosanoico também foram encontradas. O ácido elaídico, um isômero do ácido oleico com ligação dupla na configuração trans, foi encontrado em proporções inferiores a 3% nos óleos.

Os ácidos graxos identificados nos extratos são de grande importância farmacológica. O efeito positivo desses ácidos graxos tem sido amplamente investigado como no caso do óleo da semente de cumaru, que demonstrou potencial como agente antimicrobiano e antioxidante (FETZER et al., 2021). Evidências sugerem que os ácidos graxos atuam como detergentes na estrutura anfipática das membranas celulares bacteriana prejudicando processos de geração de energia (PEREIRA et al., 2018b). Efeitos imunomoduladores contra *Escherichia coli*

enteropatogênica também foram atribuídos aos ácidos graxos presentes no óleo de buriti (CRUZ et al., 2020).

Para materiais vegetais que consistem em múltiplos componentes com interações complexas, a obtenção de um componente individual é dificultada, uma vez que um único solvente pode não ser seletivo para um único composto (MARKOM et al., 2007). Compostos da classe dos terpenos foram identificados nos óleos do resíduo da gabiroba em menores proporções em relação aos ácidos graxos. Terpenos são os principais compostos encontrados em óleos essenciais e foram encontrados anteriormente em óleos essenciais dos frutos e sementes a *C. xanthocarpa* (MARIN et al., 2008; VALLILO et al., 2008). O perfil de terpenos apresentado pelos ORG é semelhante ao encontrado por Cardoso et al. (2010) para as frações hexânicas dos frutos de *C. pubescens* e *C. adamantium*.

Os resultados da composição química apresentados na TABELA 16, mostram que os ORG contêm um elevado número de compostos ativos. O  $\beta$ -cadineno foi o componente majoritário da classe dos terpenos em todos os óleos obtidos (2,53 – 8,37 %). Esse composto foi identificado em proporções semelhantes (4,78 – 7,3 %) em óleos essenciais de plantas que apresentaram efeitos antimicrobiano (KIM; SHIN, 2005), atividade antioxidante e alelopática moderadas (ABD-ELGAWAD et al., 2020). O óleo obtido por SE-EP apresentou 40% de terpenos em sua composição, frente a 18 e 14% apresentados pelos óleos SE-H e UAE-H, respectivamente, indicando uma possível influência do solvente na obtenção desses compostos. No óleo obtido por SE-EP e SE-H, o cloveno é o segundo composto mais abundante (5,57 %) e um dos vários produtos de transformação do cariofileno (BECKER; LOEWENTHAL, 1965), que é usado como conservante em alimentos, medicamentos e cosméticos e foi testado *in vitro* como antifúngico contra dermatófitos (BHUIYAN; BEGUM; NANDI, 2010; CAPELETTO et al., 2016). O  $\beta$ -patchouleno encontrado em pequenas quantidades em todos os óleos é um sesquiterpeno que tem sido amplamente utilizado na medicina tradicional chinesa para o tratamento de doenças inflamatórias (ZHANG et al., 2016).

Compostos voláteis como os terpenos, podem desencadear efeitos farmacológicos no organismo humano e estão envolvidos no sabor e aroma das frutas, características sensoriais que desempenham um papel fundamental na aceitabilidade dos consumidores (FERREIRA et al., 2016; RAPHAELLI et al., 2021). Segundo Vallilo

et al., (2008), a presença desses compostos nos extratos contribui para o uso dos mesmos como aromatizante em destilados alcoólicos, bebidas, sorvetes e doces.

Marin et al. (2008) encontraram diversos terpenos no óleo essencial dos frutos da gabioba obtido por hidrodestilação, como  $\alpha$ -Cubebeno (1,1%),  $\alpha$ -Copaeno (2,8%),  $\beta$ -Gurjuneno (0,7%),  $\beta$ -Cadineno (0,6%), aloaromadendreno (1,4%),  $\alpha$ -Muuroleno (5%), guaiol (4,3%) também identificados nos ORG. A composição química dos extratos obtidos por Capeletto et al. (2016) e Czaikoski et al. (2015) utilizando solventes comprimidos apresentaram diversos compostos em comum com o ORG, mas em concentrações muito diferentes. Nos extratos das sementes de *C. xanthocarpa* obtidos por Capeletto et al. (2016), foram encontrados o ácido oleico (0,21%) e linoleico (0,18%), porém em proporções inferiores às do presente trabalho. Os compostos majoritários foram sesquiterpenos, como o cariofileno (17,83%), germacreno D (10,66%),  $\gamma$ -Cadineno (9,58%) e  $\alpha$ -Cadinol (8,83%). Os compostos em comum ao presente trabalho foram o  $\alpha$ -copaeno,  $\alpha$ - e  $\beta$ -gurjuneno,  $\alpha$ - e  $\delta$ -cadineno, isodene, entre outros. Esta diferença na composição está relacionada ao método de extração, solventes utilizados e a natureza da matéria-prima, de forma que a combinação desses fatores permitiu a obtenção de um mix de compostos voláteis em menores proporções e de ácidos graxos em maior quantidade, como obtido para o ORG.

Os resultados apresentados mostram que as frações lipídicas do resíduo da gabioba, independente da forma de extração, podem ser considerados óleos nutricionais de alta qualidade devido sua rica composição química, sendo um indicativo do potencial farmacológico e industrial deste material. O ORG pode ser utilizado para suprir necessidades das indústrias de alimentos, farmacêutica e cosméticos, uma vez que há um aumento crescente na busca por produtos com propriedades biológicas à base de óleo e gorduras vegetais.

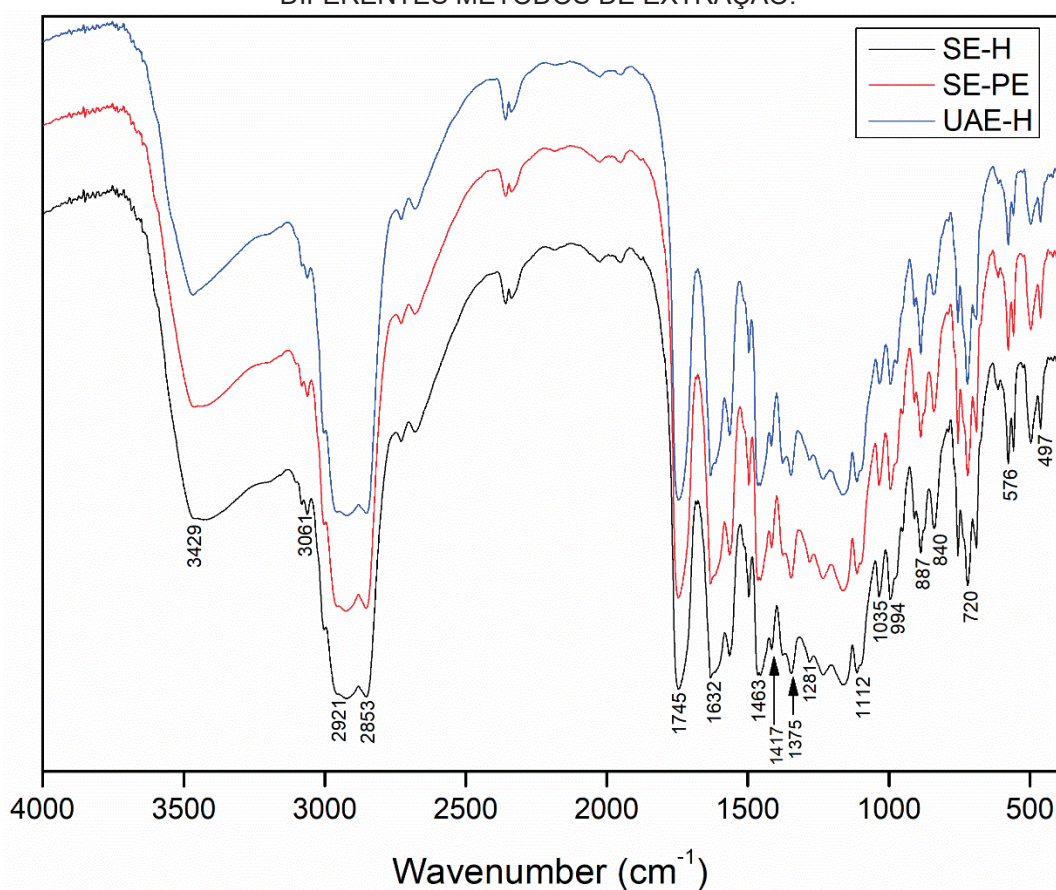
#### 4.9.2. Análise no espectro infravermelho

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) é uma excelente ferramenta para análise, pois as intensidades das bandas no espectro são proporcionais à concentração. Os espectros de infravermelho médio têm sido usados para caracterizar óleos e gorduras comestíveis porque diferem na intensidade e na

frequência exata em que a absorbância máxima ou transmitância da banda aparece, de acordo com a natureza e composição da amostra (ZAHIR et al., 2017).

De acordo com os espectros IR mostrados na FIGURA 15, os compostos presentes nos ORG exibem muita complexidade e diversidade. No entanto, os espectros para todas as amostras são bastante semelhantes, pois mostram uma sobreposição total de cada banda de absorção de vários componentes de intensidade similares, indicando a presença dos mesmos grupos funcionais. Os picos de impressão digital característicos de IR para as amostras de ORG estão principalmente na faixa de 1700–500  $\text{cm}^{-1}$ .

FIGURA 15 – ESPECTRO DE FTIR DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.



SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano;

A partir dos espectros de infravermelho, podemos observar os sinais específicos do grupo hidroxila no número de onda de 3429  $\text{cm}^{-1}$ . Outros trabalhos constataram a vibração de estiramento O–H em números de onda semelhantes (TUDORACHI; MUSTATA, 2015; ZAHIR et al., 2017). As funções –OH podem estar relacionadas ao glicerol livre dos triacilgliceróis, terpenos e/ou umidade residual.

Podemos observar a presença de uma banda de absorção característica do estiramento da ligação C–H observada na região entre  $3061\text{ cm}^{-1}$  e  $2853\text{ cm}^{-1}$ . Essa ligação apresenta-se como uma absorção de baixa intensidade devido sua baixa polaridade. No entanto, como as moléculas de ácidos graxos têm um grande número de ligações C–H, a intensidade de absorção observada é alta devido à sobreposição dessas absorções, somada ainda as ligações C–H presente nos sesquiterpenos. Assim, quanto maior o número de ligações C–H, maior a absorção nesta região (DE CARVALHO et al., 2020). Isso foi observado nos espectros das amostras analisadas considerando três bandas de absorção distintas em  $3061$ ,  $2921$  e  $2853\text{ cm}^{-1}$ . O pico de vibração do estiramento C–H  $\text{sp}^2$  ocorre em valores acima de  $3000\text{ cm}^{-1}$  ( $3095$ – $3010\text{ cm}^{-1}$ ). Isso foi verificado no espectro, onde uma banda de absorção pode ser observada em  $3061\text{ cm}^{-1}$ , atribuída como vibração de estiramento C–H da ligação dupla cis =C–H enquanto as bandas em  $2921\text{ cm}^{-1}$  e  $2853\text{ cm}^{-1}$  indicam vibrações de estiramento assimétricos e simétricos de  $\text{CH}_2$  alifático (ZAHIR et al., 2017).

Essas bandas estão associadas a outras bandas de absorção ocorrendo em  $1463\text{ cm}^{-1}$ ,  $1375\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas a vibrações de flexão de grupos alifáticos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$ , confirmando que as amostras analisadas possuem muitas ligações do tipo CH devido ao tamanho das cadeias de ácidos graxos dos óleos vegetais (DE CARVALHO et al., 2020; SIM; TING, 2012; ZAHIR et al., 2017). Todas essas bandas confirmam a natureza predominantemente alifática dessas estruturas caracterizadas pelos picos entre  $3061$ – $2853\text{ cm}^{-1}$  para os grupos metileno e  $1463\text{ cm}^{-1}$  e  $1375\text{ cm}^{-1}$  para suas absorções harmônicas.

Os ácidos carboxílicos têm uma banda muito forte devido ao grupo carbonila na faixa de  $1730$ – $1700\text{ cm}^{-1}$  para ácidos carboxílicos alifáticos simples (CARVALHO et al., 2020). Nos espectros de IR do presente trabalho, a banda característica dos ácidos carboxílicos ocorre em aproximadamente  $1745\text{ cm}^{-1}$ , onde o sinal específico para grupos os ésteres estão localizados, caracterizados pelas vibrações de estiramento do grupo funcional éster carbonila (ligação C=O) dos triacilgliceróis.

A banda localizada em  $1632\text{ cm}^{-1}$  indica a ocorrência de vibrações de estiramento C=C de alcenos cis, presentes na cadeia de ácidos graxos insaturados e em anéis aromáticos. Como mostrado anteriormente, a CG-EM identificou ácidos graxos e compostos voláteis aromáticos, logo os picos de absorção dessa ligação nessas duas moléculas podem ter se sobreposto. A TABELA 17 traz um resumo dos

principais picos encontrados nos espectros de infravermelho e os grupos funcionais responsáveis.

TABELA 17 – PRINCIPAIS PICOS ENCONTRADOS NOS ESPECTROS DE ÓLEOS COMESTÍVEIS E OS GRUPOS FUNCIONAIS CORRESPONDENTES.

Numero de onda (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional	Atribuições do pico	Intensidade
3429	-O-H	Estiramento	Forte
3061	=C-H, cis -HC=CH-	Estiramento (simétrico)	Fraco
2921	-C-H, CH <sub>2</sub>	Estiramento (assimétrico)	Forte
2853	-C-H, CH <sub>2</sub>	Estiramento (simétrico)	Forte
1745	C=O	Estiramento	Forte
1632	C=C, cis -HC=CH-	Estiramento	Médio
1463	-C-H, CH <sub>2</sub>	Flexão (scissoring)	Médio
1417	=C-H, cis -HC=CH-	Flexão (rocking)	Fraco
1375	-C-H, CH <sub>3</sub>	Flexão	Fraco
1281 - 1112	C-O	Estiramento	Fraco
1035, 994	C=C, trans -HC=CH-	Flexão (fora do plano)	Fraco
887, 840	=CH <sub>2</sub>	Flexão (wagging)	Fraco
720	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> - -HC=CH-	Flexão (rocking) Flexão (fora do plano)	Médio
576-497	-C-H	Flexão (fora do plano)	Fraco

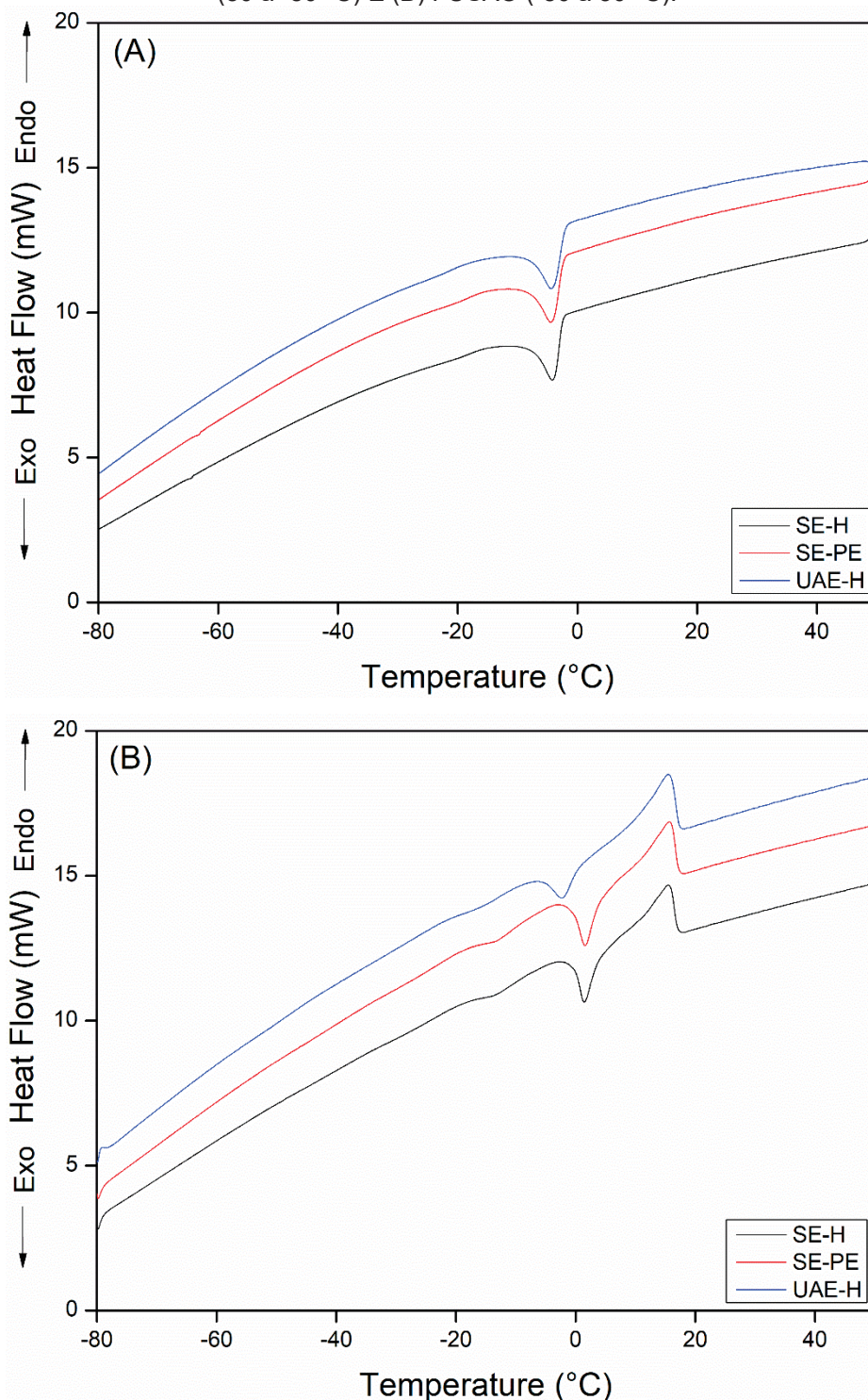
Em 1417 cm<sup>-1</sup> pode-se observar uma banda de absorção de baixa intensidade atribuída as vibrações de balanço da ligação =C–H. Bandas de absorção de baixa intensidade relacionadas as vibrações de deformação axial da ligação C–O podem ser observadas em 1281 cm<sup>-1</sup>, 1232 cm<sup>-1</sup>, 1159 cm<sup>-1</sup>, 1112 cm<sup>-1</sup>. Picos presentes nos números de ondas entre 1006–929 cm<sup>-1</sup> indicam insaturação trans (ZHANG et al., 2012). No presente trabalho, em 1035 cm<sup>-1</sup> há um pico característico de insaturações conjugadas e 994 cm<sup>-1</sup> está contido vibrações de flexão da ligação C=C mostrando uma insaturação trans RHC=CHR, enquanto em 720 cm<sup>-1</sup> está representado a sobreposição -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>- e CH=CH devido a vibrações de balanço de CH<sub>2</sub> e a vibração fora do plano de alcenos cis (ZAHIR et al., 2017; ZHANG et al., 2012). Os picos contidos nos números de onda entre 576 cm<sup>-1</sup> e 497 cm<sup>-1</sup> correspondem a vibrações de dobramento C–H fora do plano em CH<sub>2</sub>.

#### 4.9.3. Comportamento térmico

As curvas de aquecimento e resfriamento dos óleos do resíduo da gabioba foram determinadas por calorimetria exploratória diferencial. As três amostras de óleos obtidas mostraram comportamento similar. Como pode ser visto na FIGURA 16 (A), o fenômeno de nucleação para essas amostras apresentou uma intensidade ligeiramente maior na amostra de óleo obtida por ultrassom, seguida da amostra obtida em Soxhlet com éter de petróleo e por fim, a amostra obtida em Soxhlet com hexano. A corrida de resfriamento apresentou dois picos exotérmicos separados. Os resultados mostram que a cristalização de todas as amostras durante o resfriamento ocorreu por volta de  $-4,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Uma vez acionada, a cristalização prossegue muito rapidamente, ou seja, em um intervalo de temperatura estreito (DAELS; FOUBERT; GODERIS, 2017). No presente trabalho, a cristalização ocorreu na faixa de  $-1,3\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Geralmente, se os óleos consistirem principalmente de ácidos graxos saturados, os picos de cristalização seriam em temperatura relativamente alta (MOHAMMADPOUR et al., 2019). Um segundo pico mais discreto ocorre em  $-64\text{ }^{\circ}\text{C}$  para as amostras de óleo obtidas com SE-H e SE-PE. Esses resultados sugerem a presença de diferentes tipos de compostos nas amostras de óleo. Eles podem cocrystalizar com componentes de baixa fusão e isso causa uma diluição nas temperaturas de cristalização e, portanto, deslocam os picos de cristalização para temperaturas mais baixas (FETZER et al., 2021).

Os termogramas de aquecimento das amostras de óleos são apresentados na FIGURA 16 (B). Entre  $2,3\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $1,4\text{ }^{\circ}\text{C}$  pode-se observar um pico exotérmico que antecede o ponto de fusão das amostras. Transições de picos exotérmicos podem ocorrer nos ciclos de resfriamento e aquecimento. A presença deste pico exotérmico já foi observada em outros trabalhos e pode ser resultado da recristalização de algumas frações de gordura de alto ponto de fusão ou devido à ocorrência de uma transição polimórfica (BADU et al., 2018; DAELS; FOUBERT; GODERIS, 2017; LAWER-YOLAR; DAWSON-ANDOH; ATTA-OBENG, 2019; RAY et al., 2013). A temperatura de fusão das amostras ficou na faixa de  $1\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , com uma temperatura média de pico de  $15,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Amostras que apresentam grandes quantidades de ácidos graxos saturados em sua composição, deslocam as temperaturas de fusão para posições mais altas.

FIGURA 16 – DSC DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA: OBTIDO POR (A) CRISTALIZAÇÃO (50 a -80 °C) E (B) FUSÃO (-80 a 50 °C).



SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano;

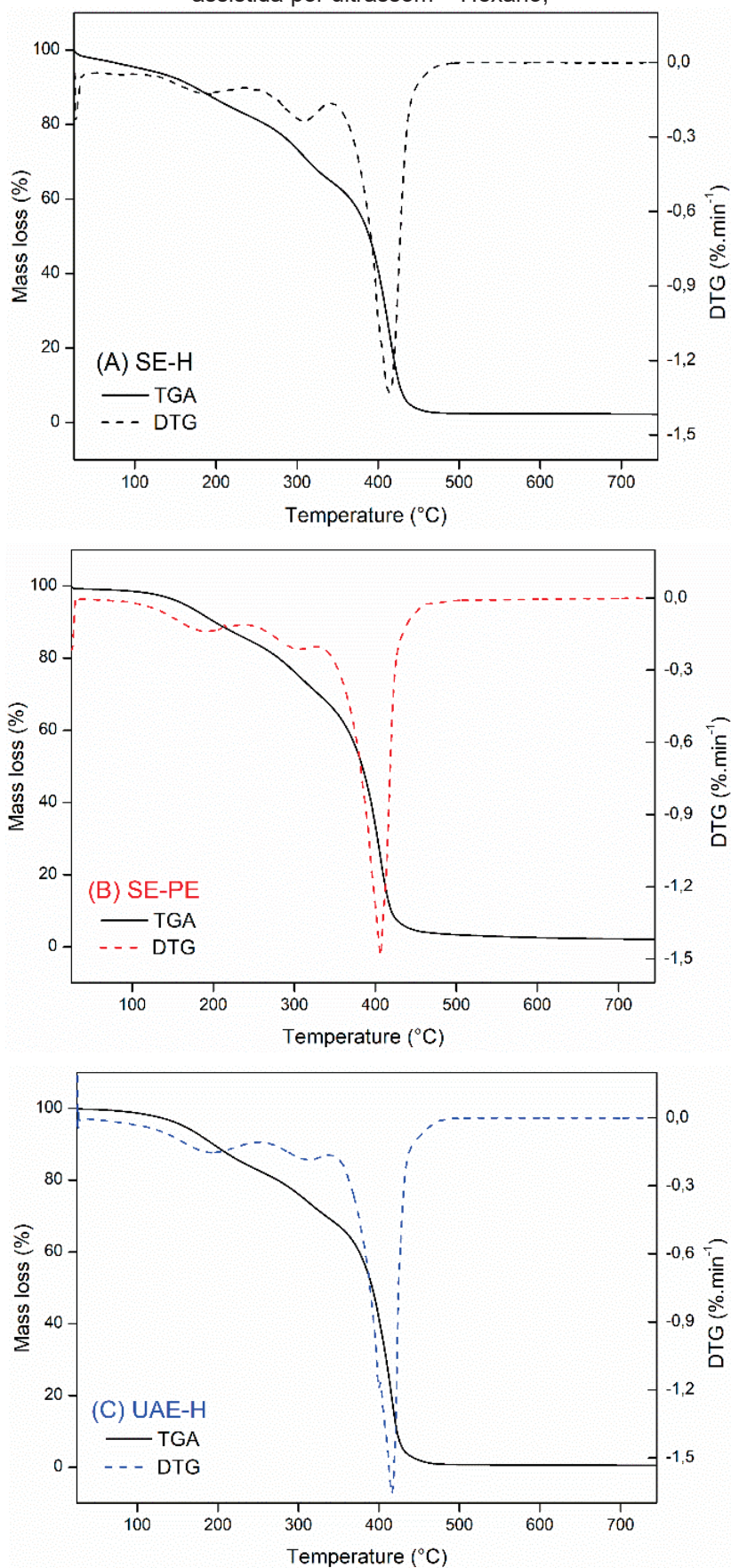
Os picos singulares observados nas amostras de óleo do resíduo da gabiropa, ocorrem devido a presença de uma classe restrita de TAGs constituído principalmente de ácido palmítico e oleico, ácidos graxos mais abundantes nos extratos. Isso é

determinante para que a fusão total da amostra ocorra em uma única temperatura. Em contraste, Badu et al., (2018) encontraram múltiplos picos de fusão no óleo de semente de karité atribuídos à presença de uma grande variedade de diferentes ácidos graxos que levaram à formação de um grande número de compostos TAG, resultando em múltiplos pontos de fusão. Amostras totalmente líquidas foram obtidas nas temperaturas 17,5, 17,7 e 17,6 °C. Esses resultados implicam que o comportamento térmico dos extratos lipofílicos da gabioba não dependeu muito das técnicas de extração ou solvente utilizados.

A estabilidade térmica foi determinada pela temperatura de decomposição do procedimento, que é a temperatura inicial na qual a decomposição da amostra começa. Observa-se na FIGURA 17 que o comportamento dos extratos foi semelhante apresentando uma decomposição em 3 estágios. Os dois estágios iniciais resultaram em uma perda de massa menos significativa.

O início da decomposição mais expressiva para os extratos SE-H e UAE-H ocorreu nas temperaturas de 350 e 348 °C, respectivamente. De acordo com a curva de DTG, a perda de massa atingiu seu valor máximo nas temperaturas 413 °C para a amostra SE-H e 415 °C para amostra UAE-H. A temperatura final foi de 467 °C para SE-H, totalizando uma perda de massa de 98 %. Já para a amostra UAE-H a temperatura final ocorre em 470 °C e a perda de massa final é de 99 %. Essas amostras apresentaram composição semelhante (TABELA 16), o que pode ter refletido em temperaturas de decomposição próximas. O comportamento de estabilidade térmica do extrato SE-PE foi semelhante aos demais, diferindo ligeiramente nas temperaturas de decomposição. O início da decomposição para a amostra SE-PE ocorreu em 338 °C e atingiu o valor máximo em 407°C. A temperatura final foi de 456 °C, quando a perda de massa totalizou 98 %.

FIGURA 17 – CURVAS TG E DTG DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA. (A) SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; (B) SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; (C) UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano;



Na TABELA 18 consta mais detalhes sobre os parâmetros obtidos em cada um dos estágios de decomposição. No primeiro estágio, a perda de massa variou de 8 a 15 % entre os extratos e ocorreram em intervalos de temperatura muito próximos. No segundo evento térmico, a perda de massa é maior para as amostras SE-H (24 %) e UAE-H (21 %). Mais de 60 % da perda de massa ocorreu no último estágio de decomposição em todos os extratos.

TABELA 18 – EVENTOS TÉRMICOS E SEUS RESPECTIVOS PARÂMETROS OBTIDOS A PARTIR DAS CURVAS DE TG E DTG.

Amostra	Evento térmico	$\Delta m$ (%)	$\Delta T$ (°C)	$T_p$ (°C)
SE-H	1	8	30-246	181
	2	24	246-350	307
	3	66	350-467	413
SE-EP	1	15	30-244	188
	2	23	244-338	300
	3	60	338-456	407
UAE-H	1	9	30-250	193
	2	21	250-342	310
	3	69	348-470	415

SE-H: Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP: Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H: Extração assistida por ultrassom – Hexano;

O número de estágios na decomposição depende da estrutura química e da composição de ácidos graxos da amostra. A estabilidade térmica depende do comprimento da cadeia de ácidos graxos, grau de insaturação e ramificação. O primeiro estágio pode ser atribuído à decomposição térmica de ácidos graxos poliinsaturados. A segunda e terceira etapas podem ser atribuídas à decomposição de ácidos graxos monoinsaturados e saturados, respectivamente (LI et al., 2015). Os ácidos graxos insaturados são menos estáveis que os ácidos graxos saturados, o que os torna mais vulneráveis a altas temperaturas (MOHAMMADPOUR et al., 2019). Além disso, os dois primeiros estágios de decomposição podem estar relacionados também a volatilização e decomposição dos sesquiterpenos que são mais termosensíveis (PAULA et al., 2011; PINTO et al., 2016). Isso explica porque a decomposição do extrato SE-PE foi maior que os demais nesses estágios, uma vez que essa amostra possui o maior conteúdo desses compostos (40 %, TABELA 16) e por esse motivo foi considerada a menos termoestável.

## 4.9.4. Conteúdo de compostos bioativos e capacidade antioxidante

Extratos hidrofílicos e lipofílicos foram obtidos de cada amostra de óleo para obtenção dos resultados de capacidade antioxidante, carotenoides, compostos fenólicos e flavonoides totais (TABELA 19).

TABELA 19 – TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, FLAVONOIDES, CAROTENOIDES E CAPACIDADES ANTIOXIDANTES DAS FRAÇÕES LIPÍDICAS DO RESÍDUO DA GABIROBA.

Extrato hidrofílico	SE-H	SE-EP	UAE-H
TPC (mg GAE/100g)	188,16 ± 16,42 <sup>b</sup>	134,99 ± 4,75 <sup>c</sup>	280,79 ± 13,74 <sup>a</sup>
Flavonoides (mg QE/100 g)	97,39 ± 6,86 <sup>b</sup>	81,64 ± 1,96 <sup>b</sup>	192,83 ± 8,92 <sup>a</sup>
DPPH (µmol TE/g)	6,71 ± 0,08 <sup>aA</sup>	4,87 ± 0,33 <sup>bB</sup>	7,07 ± 0,31 <sup>aB</sup>
ABTS (µmol TE/g)	8,93 ± 0,62 <sup>bA</sup>	5,53 ± 0,14 <sup>cB</sup>	12,08 ± 0,14 <sup>aA</sup>
FRAP (µmol TE/g)	12,60 ± 4,06 <sup>aA</sup>	8,02 ± 0,38 <sup>aA</sup>	11,36 ± 1,69 <sup>aA</sup>
Extrato lipofílico	SE-H	SE-EP	UAE-H
Carotenoides (µg de β-caroteno/g)	954,25 ± 126,05 <sup>ab</sup>	835,73 ± 3,29 <sup>b</sup>	1110,51 ± 8,73 <sup>a</sup>
DPPH (µmol TE/g)	38,20 ± 1,60 <sup>abB*</sup>	32,41 ± 1,76 <sup>bB*</sup>	41,55 ± 3,46 <sup>aB*</sup>
ABTS (µmol TE/g)	95,61 ± 3,07 <sup>bA*</sup>	68,52 ± 0,87 <sup>cA*</sup>	108,87 ± 3,64 <sup>aA*</sup>

TPC, Compostos fenólicos totais; SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano; Os valores são expressos como média ± desvio padrão (n= 3). Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tuckey (p>0,05), comparando os métodos de extração. Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente pelo teste de Tuckey (p>0,05), comparando o método de capacidade antioxidante para um mesmo extrato. Médias seguidas de \* indicam que os extratos lipofílico e hidrofílico diferem significativamente pelo teste de Tuckey (p<0,05), comparando o mesmo método de análise antioxidante.

A UAE-H se mostrou mais eficiente para obtenção de compostos fenólicos totais (280,79 mg AGE/100g) e flavonoides totais (192,83 mg quercetina/100g). Como consequência, apresentou também a maior capacidade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS, uma vez que essa propriedade está relacionada a presença de compostos bioativos, como os compostos fenólicos. O extrato hidrofílico do óleo SE-EP apresentou o teor de compostos fenólicos mais baixo dentre todos, mas o conteúdo de flavonoides totais foi equivalente ao obtido para amostra SE-H. A capacidade antioxidante pelo ensaio FRAP não apresentou diferença entre os métodos de extração (p>0,05). As maiores médias na captura do radical ABTS foi observada para UAE-H e SE-H, com valores de 12,08 e 8,93 µmol TE/g, respectivamente. Já para o DPPH, essas mesmas amostras apresentaram resultados equivalentes (p>0,05) e o óleo SE-PE expressou o resultado mais baixo (4,87 µmol TE/g).

A combinação da técnica de extração e tipo de solvente empregado resultou em maior teor de carotenoides ( $p < 0,05$ ) no óleo UAE-H (1110  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno/g) quando comparado ao óleo SE-EP (835  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno/g), de maneira que o óleo SE-H apresentou resultado intermediário ( $p > 0,05$ ). Essa tendência também foi observada na capacidade antioxidante pelo método DPPH, enquanto que para o método ABTS o óleo UAE-H apresentou o melhor resultado com um valor de 108  $\mu\text{mol TE/g}$ . Os resultados de carotenoides obtidos são comparáveis aos encontrados para óleo de pequi (550  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno/g) (BRITO et al., 2022) e buriti (760  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno/g) (CRUZ et al., 2020) e são mais de 10 vezes superiores ao encontrado no óleo da semente de gabioba (79  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno/g) (SANTOS et al., 2012a).

Os óleos do resíduo da gabioba obtidos no presente trabalho, apresentaram coloração alaranjada, sendo um indicativo da presença de carotenoides. Esses compostos são importantes para a saúde, não só pelo seu valor nutricional como precursores da vitamina A, mas também por apresentarem um grande potencial antioxidante, além de frequentemente serem utilizados em corantes alimentares (CZAIKOSKI et al., 2015). Os dados encontrados no presente trabalho corroboram essa informação, uma vez que os extratos lipofílicos que apresentaram o maior teor de carotenoides, também apresentaram maior capacidade antioxidante pelos métodos de DPPH e ABTS, conforme mostrado na TABELA 19.

A capacidade antioxidante dos extratos lipofílicos foi 5 vezes maior para o DPPH e 10 vezes maior para o ABTS quando comparado aos extratos hidrofílicos ( $p < 0,05$ ). Todos os extratos lipofílicos apresentaram capacidade antioxidante superior pelo método ABTS, enquanto os extratos hidrofílicos foram mais eficientes tanto na captura do radical ABTS quanto na redução dos íons  $\text{Fe}^{3+}$ . Ao comparar os métodos de avaliação da capacidade antioxidante, os níveis de DPPH, independentemente do método de extração, foram inferiores aos do ABTS e FRAP para os extratos hidrofílicos e lipofílicos. De maneira semelhante, os extratos lipofílicos do óleo de pequi apresentaram maior capacidade antioxidante quando comparado aos extratos hidrofílicos (BRITO et al., 2022). Isso ocorre, pois, a capacidade antioxidante dos extratos resulta de efeitos sinérgicos ou inibitórios produzidos pela interação de seus componentes, que podem atuar de diferentes formas contra os radicais (CRUZ et al., 2020). Os antioxidantes podem responder de uma maneira diferente a diferentes fontes de radicais ou oxidantes e nenhum ensaio único refletirá com precisão todas as fontes radicais ou todos os antioxidantes em um sistema misto ou complexo (ÁVILA

et al., 2019). Assim, é possível verificar que os compostos presentes nos ORG diferem em relação a sua capacidade de atuar contra os radicais.

Os fenólicos são bem conhecidos como uma classe de compostos bioativos que apresentam fortes efeitos antioxidantes *in vitro* e *in vivo* (GRANATO et al., 2016). O teor de compostos fenólicos encontrado nos extratos lipídicos do resíduo da gabioba foi superior ao encontrado para o óleo da semente de cumaru (22 mg GAE/100 g) (FETZER et al., 2021), mas inferior ao encontrado no óleo da semente de baru (685 – 1315 mg GAE/100 g) (FETZER et al., 2018). Santos et al., (2012) encontrou valores de TPC de 43 mg GAE/100 g no óleo da semente de gabioba. Os extratos da semente de *C. xanthocarpa* obtidos com solventes pressurizados também apresentaram valores de TPC maiores aos encontrados no presente trabalho. Czaikoski et al., (2015) obteve valores de até 3900 mg GAE/100 g, enquanto Capeletto et al., (2016) encontrou teores de TPC que chegou a 6800 mg GAE/100 g e de flavonoides que variou entre 231 e 810 mg de quercetina/100 g. O teor de flavonoides mais significativo para os extratos do resíduo da gabioba foi de 192,83 mg QE/100 g, próximo ao encontrado por Capeletto et al. (2016) para o extrato da semente da gabioba obtido com CO<sub>2</sub> supercrítico (231 mg QE/100g).

Em termos de capacidade antioxidante, os valores apresentados na TABELA 19 para os extratos hidrofílicos foram superiores aos encontrados para óleos vegetais na literatura. O óleo de cumaru apresentou valores de 23 e 19 µmol TE/100g pelos métodos de DPPH e ABTS (FETZER et al., 2021). A capacidade antioxidante do óleo de pequi foi de 69 µmol TE/100g pelo método ABTS e 26 µmol TE/100g pelo método de DPPH (BRITO et al., 2022). Já o óleo de baru obtido em Soxhlet com hexano, apresentou capacidade antioxidante pelo método ABTS de aproximadamente 10 µmol TE/g (FETZER et al., 2018), semelhante aos valores encontrados no presente trabalho. No entanto, os valores encontrados para os extratos hidrofílicos são considerados inferiores aos encontrado na literatura para extratos da gabioba, diminuindo consideravelmente quando comparado aos resultados obtidos na Seção II do presente trabalho para o EORG. Isso é resultado não só da técnica empregada ou do tipo de amostra, mas também da natureza do solvente empregado, uma vez que compostos fenólicos e flavonoides são compostos polares. Dessa forma, a baixa polaridade dos solventes utilizados faz com que principalmente compostos apolares como, ácidos graxos e carotenoides sejam extraídos (REGGINATO et al., 2021). Por outro lado, a capacidade antioxidante dos terpenos presente nos extratos do resíduo

da gabioba pode ter se somado a dos TPC, favorecendo a propriedade antioxidante, mesmo com o teor de compostos fenólicos mais baixos (ABD-ELGAWAD et al., 2021).

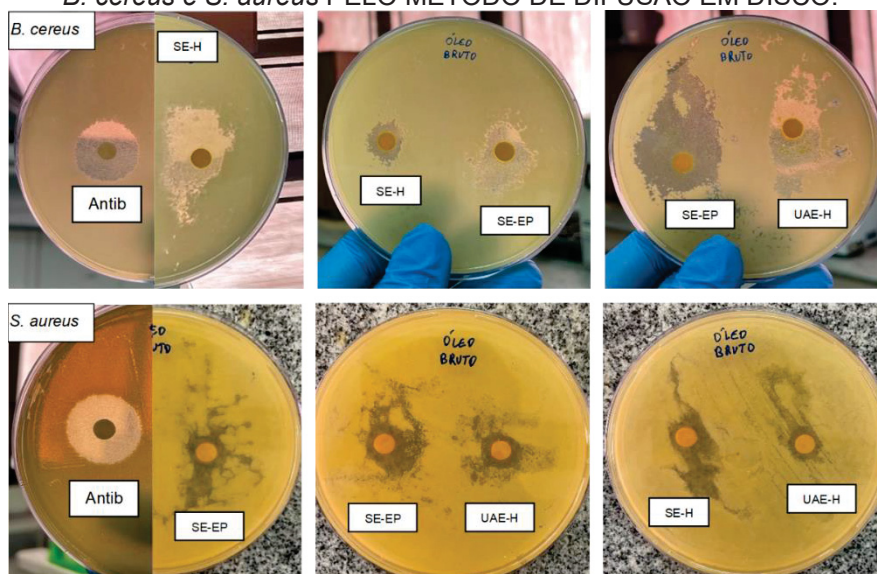
A técnica de extração não afeta apenas a composição fenólica, mas também as atividades biológicas. A extração ultrassônica garante um contato suficiente da matriz da amostra com o solvente de extração, levando, assim, a uma extração mais eficiente (STAVROU; CHRISTOU; KAPNISSI-CHRISTODOULOU, 2018). Neste trabalho, a UAE-H melhorou o conteúdo de compostos bioativos e a capacidade antioxidante dos ORG. Uma possível razão é que a temperatura e o tempo de extração prolongado do método Soxhlet tenha causado a degradação de compostos que contribuem substancialmente para a atividade antioxidante.

#### 4.10. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS

##### 4.10.1. Atividade antimicrobiana

O método de difusão em disco foi utilizado como método de triagem de atividade antimicrobiana. A inibição dos microrganismos *B. cereus* e *S. aureus* são apresentados na FIGURA 18. Os óleos não apresentaram halos de inibição com diâmetros e limites bem definidos para que fossem medidos, como observado para o antibiótico. Por se tratarem de materiais lipídicos, a difusão do óleo em meio ao ágar pode não ter sido uniforme a ponto de afetar a distribuição homogênea dos compostos.

FIGURA 18 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA CONTRA *B. cereus* e *S. aureus* PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM DISCO.



A TABELA 20 apresenta a concentração inibitória mínima (MIC) e concentração bactericida mínima (MBC) dos 3 óleos frente a bactérias Gram-positivas (*Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*), Gram-negativas (*Salmonella enterica* e *Escherichia coli*) e uma levedura (*C. albicans*).

TABELA 20 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDOS POR DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO AVALIADA PELO MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO.

Microrganismos testados		Controle	SE-H		SE-EP		UAE-H	
		positivo	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
		MIC ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )						
Bactérias	<i>S. aureus</i> <sup>a</sup>	250	62,5	250	3,900	31,25	3,90	31,25
Gran-positivas	<i>B. cereus</i> <sup>b</sup>	125	0,122	0,122	0,122	0,244	0,244	0,488
Bactérias	<i>E. coli</i> <sup>c</sup>	< 32	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Gran-negativas	<i>S. enterica</i> <sup>d</sup>	32	250	ND	250	ND	250	ND
Levedura	<i>C. albicans</i> <sup>e</sup>	1000	15,62	62,5	31,25	250	15,62	31,25

Resultados das amostras expressos em  $\text{mg.mL}^{-1}$ . ND, não detectado; SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano; MIC, concentração inibitória mínima; MBC, concentração bactericida mínima; <sup>a</sup>*Staphylococcus aureus*, <sup>b</sup>*Bacillus cereus*, <sup>c</sup>*Escherichia coli*, <sup>d</sup>*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, <sup>e</sup>*Candida albicans*.

O controle positivo utilizado como padrão (ciprofloxacino e nistatina) foi efetivo na inibição de todas as bactérias testadas. Os óleos foram efetivos contra as bactérias Gram-positivas. Para bactérias Gram-negativas, apenas o efeito inibitório de crescimento da *Salmonella* foi observado na concentração de  $250 \text{ mg.mL}^{-1}$ . A maior resistência das bactérias Gram-negativas é atribuída à complexidade da parede celular desse grupo de microrganismos, que possui uma membrana externa que confere à superfície bacteriana forte característica hidrofílica e restringe a difusão de compostos hidrofóbicos através de seu revestimento lipopolissacarídeo (CZAIKOSKI et al., 2015), em comparação com a membrana celular mais simples das bactérias Gram-positivas, que facilita a penetração de compostos lipofílicos (OLIVEIRA et al., 2016).

Os ORG foram mais eficazes para bactérias Gram-positivas, apresentando atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *B. cereus*. *S. aureus* foi mais suscetível ao óleo UAE-H e SE-EP, enquanto *B. cereus* foi mais suscetível ao óleo SE-H. A

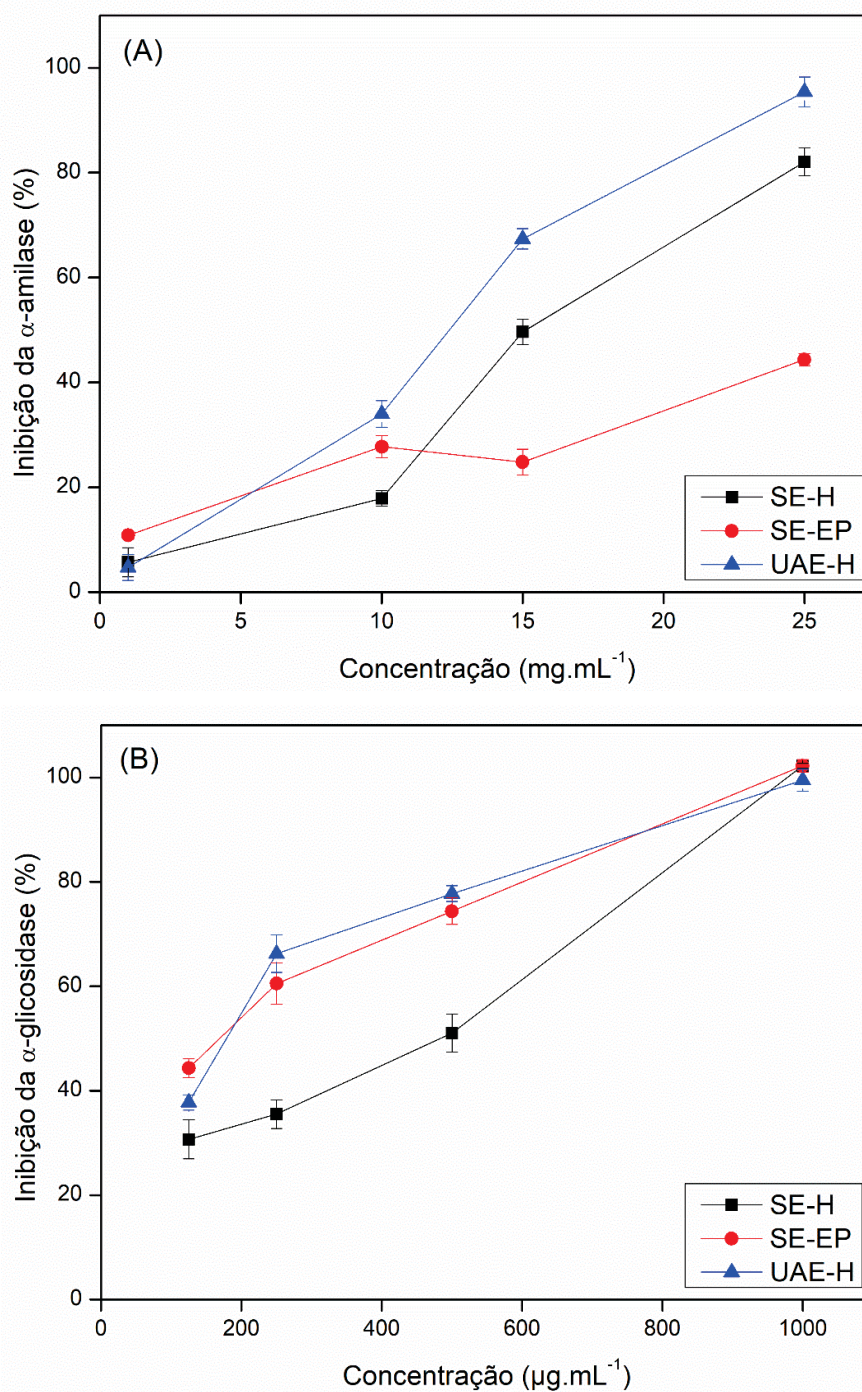
atividade inibitória e bactericida do óleo SE-H contra *B. cereus* correspondeu a uma concentração de 0,122 mg.mL<sup>-1</sup>, semelhante ao resultado apresentado pelo óleo SE-EP (MIC: 0,122 mg.mL<sup>-1</sup>; MBC: 0,244 mg.mL<sup>-1</sup>). Concentrações maiores foram necessárias quando o óleo testado foi UAE-H (MIC: 0,244 mg mL<sup>-1</sup>; MBC: 0,488 mg.mL<sup>-1</sup>). Por outro lado, as concentrações necessárias para atividade antimicrobiana contra *S. aureus* foram menores para os óleos UAE-H e SE-EP, com MIC de 3,9 mg.mL<sup>-1</sup> frente a 62,5 mg.mL<sup>-1</sup> para óleo SE-H. As MBC aumentaram para 31,5 mg.mL<sup>-1</sup> com os óleos obtidos por SE-EP e UAE-H e 250 mg.mL<sup>-1</sup> para o óleo SE-H, respectivamente. As propriedades antimicrobianas contra *S. aureus* apresentadas pelo ORG os tornam fortes candidatos a serem incorporados em biofilmes para o desenvolvimento de curativos (DOU et al., 2023).

A *C. albicans* foi mais sensível ao óleo UAE-H que apresentou menor MBC (31,5 mg.mL<sup>-1</sup>) e MIC (15,65 mg.mL<sup>-1</sup>). Os ácidos oleico, palmítico e linoléico, encontrados no GRO, juntamente com os ácidos láurico e esteárico são conhecidos por seu potencial antifúngico (BHAGAVATHY; SUMATHI; SHERENE BELL, 2011).

Os terpenos frequentemente encontrados em óleos essenciais têm atividade antimicrobiana principalmente através da sua capacidade de promover a ruptura celular e a inibição da síntese de proteínas e DNA (MASYITA et al., 2022). Extratos de sementes de *C. xanthocarpa* obtidos com solventes comprimidos apresentaram efeito inibitório máximo para *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria resistente, com MIC e MBC entre 5 e 40 mg.mL<sup>-1</sup>, atribuindo esse resultado aos sesquiterpenos presentes no óleo essencial (CAPELETTO et al., 2016). Além disso, os ácidos graxos possuem propriedade detergente e são capazes de solubilizar componentes das membranas celulares bacterianas, aumentando sua permeabilidade a compostos antimicrobianos e prejudicando processos de geração de energia, absorção de nutrientes e inibição de atividades enzimáticas (CRUZ et al., 2020).

#### 4.10.2. Atividade inibitória da $\alpha$ -amilase e $\alpha$ -glicosidase

A inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase pelos ORG apresentou comportamento dose-dependente, como pode ser observado na FIGURA 19. O óleo UAE-H apresentou maior potencial de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase (FIGURA 19A) em comparação aos demais. A inibição da enzima  $\alpha$ -glicosidase (FIGURA 19B) não foi influenciada pelo método de extração na maior concentração testada.

FIGURA 19 – ATIVIDADE INIBITÓRIA DA  $\alpha$ -AMILASE E  $\alpha$ -GLICOSIDASE PELOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA.

SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano; As enzimas foram submetidas a tratamentos com concentrações crescentes de cada amostra de óleo: 1 a 25 mg.mL<sup>-1</sup> para inibição da  $\alpha$ -amilase (A) e 125 a 1000 µg.mL<sup>-1</sup> para inibição de  $\alpha$ -glicosidase (B). Os dados representam a média  $\pm$  desvio padrão de pelo menos três experimentos independentes. As curvas de inibição foram plotadas usando o software OriginPro 8.5.

As enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase são responsáveis pela hidrólise de carboidratos e absorção de glicose. A atividade antidiabética concentra-se na inibição dessas enzimas, desacelerando o metabolismo dos carboidratos e diminuindo a

hiperglicemia pós-prandial (DOMÍNGUEZ-PERLES; GARCÍA-VIGUERA; MEDINA, 2023). Portanto, produtos com capacidade de inibir essas enzimas podem ser atrativos para o tratamento da hiperglicemia (ARCARI et al., 2020). O efeito antidiabetes tipo 2 é uma propriedade conhecida de extratos aquosos e alcoólicos de folhas, sementes e frutos de *C. xanthocarpa* (ARCARI et al., 2020; BIAVATTI et al., 2004; REGGINATO et al., 2021; VINAGRE et al., 2010).

A TABELA 21 traz os percentuais de inibição e valores de IC<sub>50</sub>. Quanto maior a concentração testada, maior o percentual de inibição das enzimas (p<0,05). A inibição da α-amilase a 25 mg.mL<sup>-1</sup> foi de 82% para o óleo SE-H, chegando a 95% para o óleo UAE-H. Um resultado 2 vezes menor foi observado para o óleo SE-EP que inibiu cerca 44% da atividade enzimática na maior concentração testada. Para esse mesmo óleo, o aumento da concentração de 10 para 15 mg.mL<sup>-1</sup> não foi significativo, apresentando uma média de inibição de 26%. O óleo SE-EP apresentou 10,8% de inibição na concentração de 1 mg.mL<sup>-1</sup>, valor 2 vezes maior ao apresentado pelos óleos SE-H (5,7%) e UAE-H (4,7%), no entanto, seu valor de IC<sub>50</sub> foi superior as concentrações testadas (> 625 µg.mL<sup>-1</sup>). O IC<sub>50</sub> obtido pelo óleo UAE-H foi de 316 µg.mL<sup>-1</sup> de reação comparado a 400 µg.mL<sup>-1</sup> do óleo SE-H, indicando que concentrações menores do óleo obtido por ultrassom são necessárias para obter 50% de inibição da enzima.

TABELA 21 – CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÉDIA (IC<sub>50</sub>) E VALORES PERCENTUAIS DE INIBIÇÃO DAS ENZIMAS α-AMILASE E α-GLICOSIDASE PELOS ÓLEOS DO RESÍDUO DA GABIROBA.

Amostra	Inibição da α-amilase (%)				IC <sub>50</sub> (µg/mL de reação)
	25 (mg.mL <sup>-1</sup> )	15 (mg.mL <sup>-1</sup> )	10 (mg.mL <sup>-1</sup> )	1 (mg.mL <sup>-1</sup> )	
<b>SE-H</b>	82,1 ± 0,7 <sup>ba</sup>	49,6 ± 2,4 <sup>bb</sup>	17,9 ± 0,5 <sup>cc</sup>	5,7 ± 0,8 <sup>bd</sup>	400
<b>SE-PE</b>	44,3 ± 1,1 <sup>ca</sup>	24,8 ± 2,5 <sup>cb</sup>	27,7 ± 2,1 <sup>bb</sup>	10,8 ± 0,7 <sup>ac</sup>	> 625
<b>UAE-H</b>	95,4 ± 2,8 <sup>aa</sup>	67,4 ± 0,9 <sup>ab</sup>	34,0 ± 2,5 <sup>ac</sup>	4,7 ± 0,5 <sup>bd</sup>	316
Amostra	Inibição da α-glicosidase (%)				IC <sub>50</sub> (µg/mL de reação)
	1000 (µg.mL <sup>-1</sup> )	500 (µg.mL <sup>-1</sup> )	250 (µg.mL <sup>-1</sup> )	125 (µg.mL <sup>-1</sup> )	
<b>SE-H</b>	102,2 ± 0,5 <sup>aA</sup>	51,0 ± 3,7 <sup>bB</sup>	35,5 ± 2,8 <sup>bC</sup>	30,7 ± 3,7 <sup>cC</sup>	122
<b>SE-PE</b>	102,2 ± 1,2 <sup>aA</sup>	74,4 ± 2,5 <sup>aB</sup>	60,5 ± 4,0 <sup>aC</sup>	44,3 ± 1,8 <sup>aD</sup>	41
<b>UAE-H</b>	99,5 ± 2,1 <sup>aA</sup>	77,7 ± 1,5 <sup>aB</sup>	66,2 ± 3,6 <sup>aC</sup>	37,7 ± 1,5 <sup>bD</sup>	45

SE-H, Extração por Soxhlet – Hexano; SE-EP, Extração por Soxhlet – Éter de petróleo; UAE-H, Extração assistida por ultrassom – Hexano. Os valores são expressos como média ± desvio padrão (n= 3). Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna e maiúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente pelo teste de Tuckey (p>0,05).

Na maior concentração testada, o efeito inibitório da  $\alpha$ -glicosidase atingiu 100% para todos os métodos de extração dos óleos. Os resultados de inibição dos óleos SE-EP e UAE-H nas concentrações de 500 e 250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  foram semelhantes ( $p>0,05$ ) e cerca de 50% maior ao resultado apresentado pelo óleo SE-H, nas mesmas concentrações. Na concentração de 125  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , os ORG apresentaram maior potencial de inibição da  $\alpha$ -glicosidase quando comparado à algumas concentrações da enzima  $\alpha$ -amilase, chegando a 44% com o óleo SE-EP na menor concentração testada. Os valores de  $\text{IC}_{50}$  corroboram esta informação uma vez que concentrações menores dos óleos são necessárias para inibir 50% da atividade da  $\alpha$ -glicosidase (122  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de reação para SE-H, 41  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para SE-EP e 45  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de reação para UAE-H).

Acarbose é o composto frequentemente usado para retardar a digestão de carboidratos por meio da inibição de enzimas digestivas (DOMÍNGUEZ-PERLES; GARCÍA-VIGUERA; MEDINA, 2023), e possui valores de  $\text{IC}_{50}$  de 24 e 58  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  para  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, respectivamente (MAHINDRAKAR; RATHOD, 2022). Extratos metanólicos de frutos de gabiroba ricos em compostos fenólicos apresentaram inibição da atividade da  $\alpha$ -amilase com  $\text{IC}_{50}$  de 26  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de reação (ARCARI et al., 2020). Assim sendo, os efeitos antidiabéticos foram mais significativos quando comparados ao presente trabalho, uma vez que os valores de  $\text{IC}_{50}$  das frações lipídicas do resíduo da gabiroba foram superiores a 300  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de reação. Além disso, o potencial dos óleos na inibição das enzimas foi mais significativo quando comparado ao resultado apresentado pelo EORG na seção II ( $\text{IC}_{50}$   $\alpha$ -amilase: 1471,5  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ;  $\text{IC}_{50}$   $\alpha$ -glicosidade: 46,6  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), devido aos valores de  $\text{IC}_{50}$  mais baixos.

Extratos obtidos com solvente pressurizado de sementes de *C. xanthocarpa* reduziram os níveis de glicemia em ratos. Os principais compostos encontrados aos quais foram atribuídos esse efeito foram os terpenos, como cariofileno, eudesmol, guaiol,  $\alpha$ -Selineno e  $\beta$ -cadineno, muitos deles também identificados nos óleos do resíduo da gabiroba (REGGINATO et al., 2021).

O efeito hipoglicêmico resultante da inibição enzimática tem sido associado à presença de grupos hidroxila de polifenóis, alcaloides e terpenos (DOMÍNGUEZ-PERLES; GARCÍA-VIGUERA; MEDINA, 2023). Além disso, ácidos graxos já foram citados na literatura pela capacidade de inibir enzimas hidrolisadoras de carboidratos, como  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase, retardando assim a absorção de glicose (TENG; CHEN, 2017). Em extratos do azeite de oliva virgem, interações lipídico-fenólicas

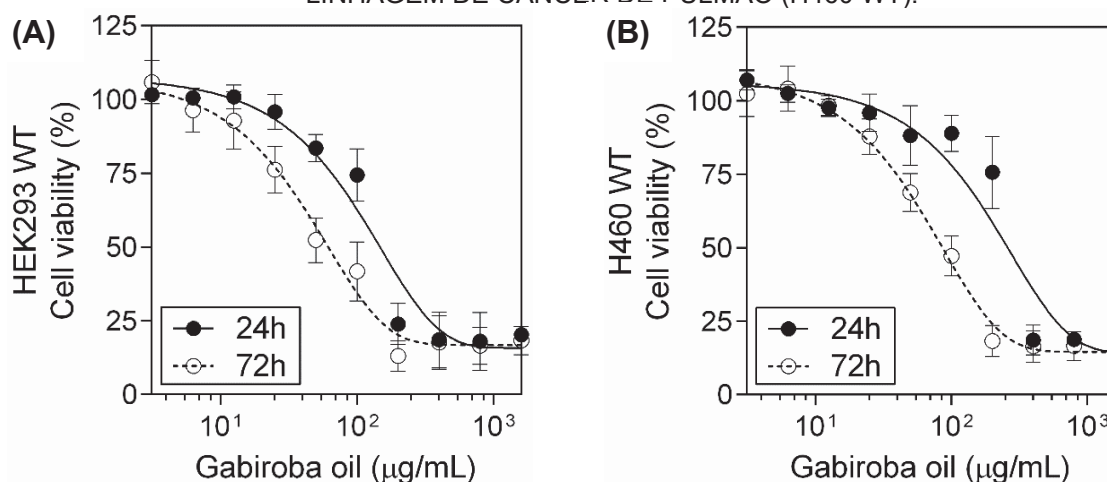
foram responsáveis pelas atividades antioxidantes e de inibição da enzima  $\alpha$ -amilase *in vitro* (ALU'DATT et al., 2014).

Diversos autores relacionam atividade antidiabética de plantas com a presença de fitoquímicos que podem exibir atividades antioxidantes e de eliminação de radicais livres. Esses compostos incluem antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos, saponinas, carotenoides, terpenos, açúcares, proteínas, capsaicinoides, ácidos graxos e alcaloides (PAPOUTSIS et al., 2021). Portanto, a inibição enzimática apresentada pelas amostras pode ser resultado de uma interação sinérgica entre os diferentes compostos encontrados nos óleos, conferindo potencial antidiabético. Essa e outras propriedades demonstradas pela espécie *C. xanthocarpa*, justificam sua utilização no tratamento de doenças na medicina popular (SANT'ANNA et al., 2017; VIECILI et al., 2014).

#### 4.10.3. Citotoxicidade *in vitro* do óleo UAE-H

O efeito citotóxico do óleo UAE-H em linhagem celular de fibroblasto humano (HEK293 WT) e linhagem celular de câncer de pulmão (H460 WT) é mostrado na FIGURA 20 e TABELA 22. As células foram expostas a concentrações crescentes de óleo (3,125 – 1600  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) por 24 e 72 horas. Os resultados mostram que o aumento da concentração e do tempo de exposição diminuiu o número de células viáveis, indicando um efeito citotóxico dependente do tempo e da dose.

FIGURA 20 – CURVAS DE VIABILIDADE IG50 E PERFIL CITOTÓXICO DO ÓLEO DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDO POR UAE-H. (A) LINHAGEM DE FIBROBLASTO HUMANO (HEK293 WT), (B) LINHAGEM DE CANCER DE PULMÃO (H460 WT).



Células HEK293 tipo selvagem (A) e H460 tipo selvagem (B) foram submetidas a tratamentos de médio e longo prazo (24 e 72 horas, respectivamente) com concentrações crescentes dos compostos (3,125 - 1600  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão de, pelo menos, três experimentos independentes. As curvas de viabilidade foram ajustadas utilizando o software GraphPad Prism 6.

As células H460 responderam de forma diferente ao período de incubação. Menor viabilidade celular foi observada após 72 horas de exposição ao ORG até a concentração de 200  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Nesta concentração, a viabilidade celular ainda era superior a 75% com 24 horas e inferior a 25% com 72 horas de tratamento. Em concentrações mais elevadas do ORG (400 – 1600  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), a percentagem de células H460 metabolicamente ativas foi igualmente reduzida, apresentando viabilidade celular inferior a 25% em ambos os períodos de incubação.

Um comportamento semelhante foi observado para as células HEK293, em que o tratamento por 72 horas foi mais severo. Na concentração de 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , a viabilidade celular permaneceu acima de 75% após 24 horas de exposição e foi inferior a 50% com 72 horas. A partir dessa concentração e independente do tempo, o óleo UAE-H reduziu a viabilidade das células para menos de 25%.

Um composto pode ser considerado citotóxico quando a viabilidade celular é inferior a 70% (MOURA et al., 2021). ORG na concentração de 50  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  reduziu a viabilidade celular da célula tumoral H460 WT para menos de 70% após 72 horas de exposição. Os resultados apresentados pelo óleo UAE-H foram mais expressivos aos apresentados pelas pectinas extraídas da polpa da gabiropa que reduziram a atividade metabólica de células de glioblastoma humano para 80% na concentração de 25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (AMARAL et al., 2019). Em outro estudo, flavonas (5-hidroxi-7-metoxi-8-metil) isoladas de extratos dos frutos inteiros da gabiropa inibiram o crescimento de células H460 em 27% e em 46% de células tumorais renais (SALMAZZO et al., 2019).

A concentração necessária para reduzir a viabilidade celular para 50% ( $\text{IG}_{50}$ ) das células H460 foi de 190,7  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  após 24 horas, valor 3 vezes maior ao  $\text{IG}_{50}$  apresentado após 72 horas de incubação (60,4  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) (TABELA 22). Isto significa que a exposição das células ao ORG por 72 horas, resulta numa concentração mais baixa para inibição de 50% da viabilidade celular.

TABELA 22 –  $\text{IG}_{50}$  DO ÓLEO DO RESÍDUO DA GABIROBA OBTIDO POR UAE-H.

Linhagem Celular	$\text{IG}_{50}$ ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	
	24h	72h
HEK293 WT	103.7	42.4
H460 WT	190.7	60.4

Células HEK293 WT, linhagem de fibroblasto humano; Células H460 WT, linhagem de câncer de pulmão.

Óleos com valores de IC<sub>50</sub> entre 125 e 5.000 µg.mL<sup>-1</sup> pode ser considerado como agente terapêutico contra o câncer (YAZAN et al., 2011). Do ponto de vista farmacológico, é importante destacar que a citotoxicidade de um composto em concentrações mais baixas é uma das características mais valiosas para aplicações clínicas (AMARAL et al., 2019). Apesar do potencial citotóxico do ORG frente a células tumorais de pulmão, o IG<sub>50</sub> das células de fibroblastos humano (HEK293 WT) foi de 103,7 e 42,4 µg.mL<sup>-1</sup> para os tratamentos de 24 e 72 horas, respectivamente. Quando esses valores são comparados aos encontrados para as células H460, observa-se que concentrações menores do ORG são necessárias para diminuir a viabilidade das células HEK293 WT em 50% em ambos os períodos de incubação. Outro ponto importante é que ORG apresentou maior potencial citotóxico para ambas linhagens celulares quando se compara os valores de IG<sub>50</sub> descritos nesta seção aos obtidos para o extrato otimizado do resíduo da gabioba apresentados na Seção II para o EORG.

Os resultados apresentados na FIGURA 20 e TABELA 22 sugerem maior suscetibilidade dos fibroblastos ao ORG, indicando que o efeito citotóxico do óleo UAE-H não foi seletivo e é independente das características específicas da linhagem celular. Esses resultados enfatizam a necessidade de avaliar a seletividade da interação com células cancerígenas na triagem de candidatos a medicamentos anticâncer. A maioria dos quimioterápicos padrões induzem efeitos tóxicos em células saudáveis, desencadeando diversos efeitos secundários debilitantes para os indivíduos. Nesse sentido, uma investigação mais aprofundada acerca da composição química do ORG e seu perfil citotóxico é importante antes de indica-lo como potencial agente na terapia anticâncer.

O efeito citotóxico nas células HEK293 não excluem o ORG de outras aplicações. Resultados semelhantes foram encontrados para produtos frequentemente consumidos pelo ser humano, como o efeito citotóxico que o próprio mel apresenta quando testado *in vitro* em células normais L929. Sadeghi-Aliabadi; Hamzeh; Mirian (2015) investigaram a citotoxicidade do mel de *Astragalus* e extratos de própolis em linhagens celulares de câncer de bexiga 5637, de câncer hepático HepG2, e em células de fibroblastos L929. Os autores relataram que o mel era duas vezes mais citotóxico para as células cancerígenas do que as células L929 normais. Outro estudo demonstrou que o própolis não possui efeito citotóxico seletivo em linhagens celulares leucêmicas e de osteossarcoma, verificando maior toxicidade em

células L929 (CAMPOCCIA et al., 2021). Diante disso é possível prospectar outras aplicações para o ORG na indústria química e farmacêutica, como antioxidante e antimicrobiano em tintas e esmaltes.

Este é o primeiro trabalho que verifica a atividade citotóxica de frações lipídicas de *C. xanthocarpa*. Essa propriedade do ORG está relacionada com sua composição química diversificada. Dentre os compostos identificados no ORG, os terpenos e os terpenoides têm um papel significativo na prevenção do câncer (MASYITA et al., 2022). Extratos fenólicos livres e ligados a triacilglicerol de azeite virgem mostraram efeitos antiproliferativos em células de câncer colorretal (ALU'DATT et al., 2014). Além disso, um estudo de docking molecular revelou que os ácidos graxos oleico e palmítico têm boa afinidade para inibir a proteína Mcl-1, proteína superexpressa em várias células cancerígenas, apontando para o potencial anticancerígeno dos ácidos graxos (ALLAH et al., 2023). Os mecanismos de ação variam desde de indução da apoptose promovendo aumento na geração de radicais livres e peroxidação lipídica, como já foi observado para os ácidos graxos (DAS, 2011), até a fosforilação da proteína p53 supressora de tumor, como já demonstrado para os terpenos (MASYITA et al., 2022). Os compostos antioxidantes, como os compostos fenólicos e carotenoides também podem atuar como pró-oxidantes, induzindo a produção de radicais livres, mecanismo pelo qual a proliferação de células tumorais pode ser combatida (LIU et al., 2018; REBOREDO-RODRÍGUEZ et al., 2018).

#### 4.11. CONCLUSÃO

Esta Seção destacou a influência das técnicas de Soxhlet e Ultrassom e dos solventes hexano e éter de petróleo na extração de óleo do resíduo de gabioba. A UAE-H produziu um óleo de qualidade considerando o menor índice de acidez. O emprego do hexano foi mais significativo no rendimento do que a técnica de extração, sendo um fator positivo para essa variável. Já a técnica de extração influenciou a densidade e índice de refração.

O perfil químico dos óleos indicou a presença de ácidos graxos, principalmente oleico e palmítico, e compostos pertencentes a classe dos terpenos, como o  $\beta$ -cadineno. As técnicas e solventes empregados foram eficientes para extrair compostos bioativos e preservar propriedades funcionais, porém, o óleo obtido por UAE-H aumentou a obtenção de ácidos graxos insaturados, compostos fenólicos, carotenoides e capacidade antioxidante.

A análise no espectro infravermelho revelou os picos de impressões digitais dos óleos do resíduo da gabioba com sobreposições e de intensidade muito semelhante indicando a presença dos mesmos grupos funcionais. Os espectros mostram que o solvente ou método de extração utilizados na obtenção dos ORG não interferiu nos componentes estruturais das amostras. Os picos encontrados com a espectroscopia no infravermelho confirmam as ligações e grupos funcionais característicos dos compostos que compõem os óleos. Todos os óleos apresentaram um único pico de cristalização e fusão em faixas de temperatura próximas. O teste de estabilidade térmica mostrou que a temperatura de decomposição variou de 338 °C a 350 °C entre os óleos.

Os ORG apresentaram potencial antimicrobiano, antidiabético e anticancerígeno. Os óleos não foram efetivos contra bactérias Gram-negativas, mas podem ser considerados potenciais agentes antimicrobianos, uma vez que apresentaram atividade contra *S. aureus*, *B. cereus* e *C. albicans*. A atividade antidiabética e anticâncer mostraram comportamento dependente da dose. A enzima  $\alpha$ -glicosidase foi mais susceptível aos óleos. O óleo UAE-H apresentou citotoxicidade contra linhagens celulares de câncer de pulmão ao mesmo tempo que foi citotóxico contra linhagens de fibroblastos, indicando a necessidade de mais estudos sobre a segurança e o perfil toxicológico de cada componente do óleo.

A técnica de extração ou solvente utilizado não tiveram efeito nas propriedades térmicas e características estruturais dos óleos. No entanto, em termos tecnológicos, a extração por UAE-H foi considerada mais eficiente devido ao menor tempo de extração e ao rendimento obtido. A avaliação das propriedades biológicas também revelou o melhor desempenho da UAE-H, que requer menor tempo de extração resultando em um óleo de alta qualidade. Os resultados apresentados são essenciais para avaliar o potencial do resíduo de gabioba para ser explorado como uma nova fonte de óleo com valor nutricional e fornecem evidências para o uso do ORG como ingrediente funcional ou como agente conferente de cor.

## **CAPÍTULO V**

### *Considerações finais e Referências*

---

## CAPÍTULO V – CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Os resíduos agroindustriais podem ser vistos como um grande problema ou como estratégia para obtenção de produtos de alto valor agregado. O potencial dos subprodutos de frutas está relacionado a variedade de compostos químicos presentes em sua composição. Para o aproveitamento dessas matérias-primas, investigações sistemáticas acerca da composição química, formas de extração, potencial biológico, segurança toxicológica e mecanismo de ação, são necessárias.

O resíduo da gabioba apresentou resultados promissores para atuar como novo ingrediente funcional no desenvolvimento de produtos nutricionalmente enriquecidos, devido a sua composição nutricional e a biodisponibilidade de compostos fenólicos totais e flavonoides totais com atividade antioxidante. Além disso, a coloração da farinha indica sua aplicação em uma variedade de formulações de alimentos que exigem cor como atributo sensorial.

Os extratos obtidos do resíduo da gabioba por diferentes solventes, apresentaram uma variedade de compostos com valor biológico interessante. Esse potencial foi demonstrado através dos ensaios de capacidade antioxidante, antimicrobiana, antiglicêmico e citotóxica. Os óleos do resíduo da gabioba podem ser considerados materiais versáteis como ingredientes em formulações cosméticas e alimentícias e também proporcionam benefícios à saúde por incorporarem inúmeras substâncias em sua composição. Este trabalho fornece evidências para uso industrial como ingrediente funcional ou agente para conferir cor.

Os resultados apresentados oferecem soluções potenciais para mitigar o volume de resíduos gerados no processamento da gabioba. Além disso, contribui para o desenvolvimento científico e valorização da espécie e de seus produtos, favorecendo a movimentação econômica, produtiva e sustentável. Mais estudos acerca do potencial tecnológico e industrial do resíduo da gabioba e seus extratos, bem como sua segurança alimentar, são necessários para viabilizar sua aplicação em modelos alimentares e farmacêuticos.

## REFERÊNCIAS

---

ABDALLA, Y. O. A. et al. Natural Products for Cancer Therapy: A Review of Their Mechanism of Actions and Toxicity in the Past Decade. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2022, 2022.

ABD-ELGAWAD, A. M. et al. Chemical composition variations, allelopathic, and antioxidant activities of *Symphyotrichum squamatum* (Spreng.) Nesom essential oils growing in heterogeneous habitats. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 4237–4245, 1 fev. 2020.

ABD-ELGAWAD, A. M. et al. Chemical composition, allelopathic, antioxidant, and anti-inflammatory activities of sesquiterpenes rich essential oil of cleome amblyocarpa barratte & murb. **Plants**, v. 10, n. 7, 1 jul. 2021.

ABDUL-HAMMED, M. et al. Viscosity-temperature stability, chemical characterization, and fatty acid profiles of some brands of refined vegetable oil. **Physical Chemistry Research**, v. 8, n. 3, p. 417–427, 1 jun. 2020.

ALLAH, A. A. D. et al. Identification of phytochemicals from *Tundub Capparis decidua* (Forssk) Edgew seed oil as potential anticancer agents using gas chromatography-mass spectroscopy analysis, molecular docking, and molecular dynamics studies. **Scientific African**, v. 19, 1 mar. 2023.

ALU'DATT, M. H. et al. Investigation of Natural Lipid–Phenolic Interactions on Biological Properties of Virgin Olive Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 49, p. 11967–11975, 10 dez. 2014.

ALVES, A. M. et al. Physical and chemical characterization, total phenolics and antioxidant activity of the gabiropa pulp and residue. **Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal-SP**, p. 837–844, 2013.

ALVES, A. M. et al. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian savannah native fruits. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 37, n. 4, p. 564–569, 1 out. 2017.

ALVES, E.; SIMOES, A.; DOMINGUES, M. R. Fruit seeds and their oils as promising sources of value-added lipids from agro-industrial byproducts: oil content, lipid composition, lipid analysis, biological activity and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 8, p. 1305–1339, 2021.

AMARAL, S. DA C. et al. Cytotoxic effect of crude and purified pectins from *Campomanesia xanthocarpa* Berg on human glioblastoma cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 224, 15 nov. 2019.

ANDRADE, J. K. S. et al. Influence of in vitro gastrointestinal digestion and probiotic fermentation on the bioaccessibility of gallic acid and on the antioxidant potential of Brazilian fruit residues. **LWT**, v. 153, 1 jan. 2022.

ANVISA. Ministério da Saúde. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelo. RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. [s.l: s.n.].

ANVISA. Ministério da Saúde. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. RDC nº 054, de 12 de novembro de 2012. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0263\\_22\\_09\\_2005.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0263_22_09_2005.html)>.

AOAC. **Official methods of analysis of The American Association of Official Analytical Chemists**. 19. ed. [s.l.] American Association of Official Analytical Chemists, 2012.

ARCARI, S. G. et al. Polyphenolic compounds with biological activity in guabiroba fruits (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) by comprehensive two-dimensional liquid chromatography. **Electrophoresis**, v. 41, n. 20, p. 1784–1792, 1 out. 2020.

ÁVILA, S. et al. Bioactive compounds and biological properties of Brazilian stingless bee honey have a strong relationship with the pollen floral origin. **Food Research International**, v. 123, p. 1–10, 1 set. 2019.

ÁVILA, S. et al. Influence of Cooking Methods on In Vitro Bioaccessibility of Phenolics, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Red Cabbage. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 78, n. 1, p. 124–131, 1 mar. 2023.

AYALA-ZAVALA, J. F. et al. **Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives**. **Food Research International**, ago. 2011.

AZEEM, M. et al. An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: a review. **Polymer Bulletin**, v. 80, n. 1, p. 241–262, 1 jan. 2023.

AZMIR, J. et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

BACH, F. et al. Bio compounds of edible mushrooms: in vitro antioxidant and antimicrobial activities. **LWT**, v. 107, p. 214–220, 1 jun. 2019.

BADU, M. et al. Determination of Physical Properties and Crystallization Kinetics of Oil From *Allanblackia* Seeds and Shea Nuts Under Different Thermal Conditions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, n. 3, 1 mar. 2018.

BARBIERI, S. F. et al. Extraction, purification and structural characterization of a galactoglucomannan from the gabiropa fruit (*Campomanesia xanthocarpa* Berg), Myrtaceae family. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 887–895, 15 out. 2017.

BARBIERI, S. F. et al. Pulp and Jam of Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Characterization and Rheological Properties. **Food Chemistry**, v. 263, p. 292–299, 15 out. 2018.

BARBIERI, S. F. et al. Pectins from the pulp of gabirolba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Structural characterization and rheological behavior. **Carbohydrate Polymers**, v. 214, p. 250–258, 15 jun. 2019.

BARBOSA, C. H. et al. Industrial fruits by-products and their antioxidant profile: Can they be exploited for industrial food applications? **Foods**, v. 10, n. 2, 1 fev. 2021.

BARRA, I. M. M. et al. Systematic investigation and lipidomic profiles composition characterization in leaves of five Amaryllidaceae species by HRGC-MS technique. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 25–33, 1 nov. 2021.

BARROS, R. G. C. et al. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity in some Brazilian exotic fruit residues. **Food Research International**, v. 102, p. 84–92, 1 dez. 2017.

BECKER, D.; LOEWENTHAL, H. J. E. An alternative synthesis of (±)-clovene. **Journal of the Chemical Society**, p. 1338–1343, 1965.

BENVENUTTI, L.; ZIELINSKI, A. A. F.; FERREIRA, S. R. S. **Which is the best food emerging solvent: IL, DES or NADES? Trends in Food Science and Technology** Elsevier Ltd, , 1 ago. 2019.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BHAGAVATHY, S.; SUMATHI, P.; SHERENE BELL, I. J. Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 1, p. 1–7, 2011.

BHUIYAN, N. I.; BEGUM, J.; NANDI, N. C. Chemical component studies on the leaf and inflorescence essential oil of *Hyptis brevipes* (Poit.). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 20, p. 2128–2131, 2010.

BIAVATTI, M. W. et al. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. aqueous extract: Weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2–3, p. 385–389, ago. 2004.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1959.

BOLHASSANI, A. et al. Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment Correspondence Associate Professor LINKED ARTICLES. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, p. 1290, 2017.

BONIN, A. M. F. et al. Ripening stage impacts nutritional components, antiglycemic potential, digestibility and antioxidant properties of grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.) fruit. **Food Research International**, v. 178, 1 fev. 2024.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRITO, R. M. et al. Bioactive compounds of pequi pulp and oil extracts modulate antioxidant activity and antiproliferative activity in cocultured blood mononuclear cells and breast cancer cells. **Food and Nutrition Research**, v. 66, 2022.

BRODKORB, A. et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. **Nature Protocols**, v. 14, n. 4, p. 991–1014, 1 abr. 2019.

CAMARGO, A. C. et al. Enzyme-assisted extraction of phenolics from winemaking by-products: Antioxidant potential and inhibition of alpha-glucosidase and lipase activities. **Food Chemistry**, v. 212, p. 395–402, 1 dez. 2016.

CAMPOCCIA, D. et al. Exploring the anticancer effects of standardized extracts of poplar-type propolis: In vitro cytotoxicity toward cancer and normal cell lines. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 141, 1 set. 2021.

CAPELETTO, C. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of guavirova (*Campomanesia xanthocarpa* Berg) seed extracts obtained by supercritical CO<sub>2</sub> and compressed n-butane. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 110, p. 32–38, 1 abr. 2016.

CARDOSO, C. A. L. et al. Fruit oil of *campomanesia xanthocarpa* O. Berg and *campomanesia adamantium* O. Berg. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 6, p. 481–483, 2009.

CARDOSO, C. A. L. et al. Antimicrobial Activity of the Extracts and Fractions of Hexanic Fruits of *Campomanesia* Species (Myrtaceae). **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 5, 2010.

CARDOSO, C. L.; KATAOKA, V. M. F.; RÉ-POPPI, N. Identification of the volatile compounds of flowers of *campomanesia sessiliflora* O. Berg and *campomanesia xanthocarpa* O. Berg. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 3, p. 254–256, 2010.

CARDOZO, C. M. L. et al. Effect of supplementation with hydroethanolic extract of *campomanesia xanthocarpa* (Berg.) leaves and two isolated substances from the extract on metabolic parameters of mice fed a high-fat diet. **Molecules**, v. 25, n. 11, 1 jun. 2020.

CARVALHO, G. C. et al. Influence of the atmosphere on the decomposition of vegetable oils: study of the profiles of FTIR spectra and evolution of gaseous products. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 140, n. 5, p. 2247–2258, 1 jun. 2020.

CATELAN, T. B. S. et al. **Evaluation of the in vitro photoprotective potential of ethanolic extracts of four species of the genus *Campomanesia***. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology** Elsevier B.V., , 1 ago. 2019.

CAVALCANTE, A. M. DE M. et al. Mesquite (*Prosopis juliflora*) grain flour: New ingredient with bioactive, nutritional and physical-chemical properties for food applications. **Future Foods**, v. 5, 1 jun. 2022.

CHEBIL, L. et al. Solubility of flavonoids in organic solvents. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 52, n. 5, p. 1552–1556, set. 2007.

CHEBIL, L. et al. Solubilities inferred from the combination of experiment and simulation. Case study of quercetin in a variety of solvents. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 38, p. 12308–12313, 30 set. 2010.

CHEN, B.; MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. **Minor components in food oils: A critical review of their roles on lipid oxidation chemistry in bulk oils and emulsions**. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, dez. 2011.

CHIGURUPATI, S. et al. Molecular docking of phenolic compounds and screening of antioxidant and antidiabetic potential of *Olea europaea* L. Ethanolic leaves extract. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 11, p. 103422, nov. 2021.

CRUZ, M. B. et al. Buriti (*Mauritia Flexuosa* L.) pulp oil as an immunomodulator against enteropathogenic *Escherichia coli*. **Industrial Crops and Products**, v. 149, 1 jul. 2020.

CUVAS-LIMON, R. B. et al. Effect of Gastrointestinal Digestion on the Bioaccessibility of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Fermented Aloe vera Juices. **Antioxidants**, v. 11, n. 12, 1 dez. 2022.

CZAIKOSKI, K. et al. Extraction of *Campomanesia xanthocarpa* fruit using supercritical CO<sub>2</sub> and bioactivity assessments. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 98, p. 79–85, 2015.

DAELS, E.; FOUBERT, I.; GODERIS, B. The effect of adding a commercial phytosterol ester mixture on the phase behavior of palm oil. **Food Research International**, v. 100, p. 841–849, 1 out. 2017.

DALASTRA, V. et al. Flavonoides presentes nos extratos da *campomanesia xanthocarpa* Berg. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 7, p. 8983–8991, 2019.

DAS, U. N. Essential fatty acids enhance free radical generation and lipid peroxidation to induce apoptosis of tumor cells. **Clinical Lipidology**, v. 6, n. 4, p. 463–489, ago. 2011.

DELFAN-HOSSEINI, S. et al. Effect of extraction process on composition, oxidative stability and rheological properties of purslane seed oil. **Food Chemistry**, v. 222, p. 61–66, 1 maio 2017.

DEMARCO, M. et al. Digestibility, bioaccessibility and bioactivity of compounds from algae. **Trends in Food Science and Technology**, v. 121, p. 114–128, 1 mar. 2022.

DIAS, I. P. et al. Effects of pressurized hot water extraction on the yield and chemical characterization of pectins from *Campomanesia xanthocarpa* Berg fruits. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 146, p. 431–443, 1 mar. 2020.

DICKEL, M. L.; RATES, S. M. K.; RITTER, M. R. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 1, p. 60–71, 3 jan. 2007.

DOMÍNGUEZ-PERLES, R.; GARCÍA-VIGUERA, C.; MEDINA, S. New anti- $\alpha$ -Glucosidase and Antioxidant Ingredients from Winery Byproducts: Contribution of Alkyl Gallates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 27 set. 2023.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. **Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications**. **Current Opinion in Food Science** Elsevier Ltd, , 1 fev. 2018.

DONG, X. et al. A deep insight into the structure-solubility relationship and molecular interaction mechanism of diverse flavonoids in molecular solvents, ionic liquids, and molecular solvent/ionic liquid mixtures. **Journal of Molecular Liquids**, v. 385, 1 set. 2023.

DOU, J. et al. Willow Bark-Derived Materials with Antibacterial and Antibiofilm Properties for Potential Wound Dressing Applications. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 27 abr. 2023.

EGGERSDORFER, M.; WYSS, A. **Carotenoids in human nutrition and health**. **Archives of Biochemistry and Biophysics** Academic Press Inc., , 15 ago. 2018.

EMBRAPA. **Valor nutricional da gabioba**. [s.l: s.n.].

ERDOĞAN, A. et al. Composition of Carotenoids in *Scenedesmus protuberans*: Application of Chromatographic and Spectroscopic Methods. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 8, p. 1970–1978, 29 set. 2015.

ETGETON, S. A. P. et al. Nutritional Composition, Simulated Digestion and Biological Activities of *Campomanesia xanthocarpa* Fruit. **Plant Foods for Human Nutrition**, 2023.

FAN, J. P. et al. Measurement and correlation of the solubility of genistin in eleven organic solvents from T = (283.2 to 323.2) K. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 89, p. 142–147, 4 jun. 2015.

FAO. **Fats and fatty acids in human nutrition : report of an expert consultation : 10-14 November 2008, Geneva**. [s.l.] Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010.

FAO. **Major Tropical Fruits Review**. [s.l.] Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022.

FARIAS, D. DE P. et al. A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. **Food Chemistry**, v. 306, p. 125630, 15 fev. 2020.

FERNANDES, A. C. F. et al. Use of agro-industrial residues as potent antioxidant, antiglycation agents, and  $\alpha$ -amylase and pancreatic lipase inhibitory activity. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 4, 1 abr. 2020.

FERREIRA, D. D. F. et al. Characterization of Odor-Active Compounds in Gabiroba Fruits (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg). **Journal of Food Quality**, v. 39, n. 2, p. 90–97, 1 abr. 2016.

FERREIRA, O.; PINHO, S. P. Solubility of flavonoids in pure solvents. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 18, p. 6586–6590, 9 maio 2012.

FETZER, D. L. et al. Extraction of baru (*Dipteryx alata vogel*) seed oil using compressed solvents technology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 137, p. 23–33, 1 jul. 2018.

FETZER, D. L. et al. Extraction of cumaru seed oil using compressed propane as solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 169, 1 fev. 2021.

FIDELIS, M. et al. Camu-camu seed (*Myrciaria dubia*) – From side stream to an antioxidant, antihyperglycemic, antiproliferative, antimicrobial, antihemolytic, anti-inflammatory, and antihypertensive ingredient. **Food Chemistry**, v. 310, 25 abr. 2020a.

FIDELIS, M. et al. Response surface optimization of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* [Mart.] O.Berg) seeds: Antioxidant, antimicrobial, antihyperglycemic, antihypertensive and cytotoxic assessments. **Food and Chemical Toxicology**, v. 142, 1 ago. 2020b.

FLAKELAR, C. L. et al. A rapid method for the simultaneous quantification of the major tocopherols, carotenoids, free and esterified sterols in canola (*Brassica napus*) oil using normal phase liquid chromatography. **Food Chemistry**, v. 214, p. 147–155, 1 jan. 2017.

FREITAS, L. C. et al. From waste to sustainable industry: How can agro-industrial wastes help in the development of new products? **Resources, Conservation and Recycling**, v. 169, 1 jun. 2021.

GARCÍA, A. et al. Extraction of phenolic compounds from virgin olive oil by deep eutectic solvents (DESs). **Food Chemistry**, v. 197, p. 554–561, 15 abr. 2016.

GHARIBZAHEDI, S. M. T.; JAFARI, S. M. **The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. Trends in Food Science and Technology** Elsevier Ltd, , 1 abr. 2017.

GOH, B. H. H. et al. Ultrasonic assisted oil extraction and biodiesel synthesis of Spent Coffee Ground. **Fuel**, v. 261, 1 fev. 2020.

GÓMEZ-GARCÍA, R. et al. Valorisation of food agro-industrial by-products: From the past to the present and perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 299, 1 dez. 2021.

GRANATO, D. et al. Analytical strategy coupled with response surface methodology to maximize the extraction of antioxidants from ternary mixtures of green, yellow, and red teas (*camellia sinensis* var. *sinensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 42, p. 10283–10296, 22 out. 2014.

GRANATO, D. et al. Characterization of binary and ternary mixtures of green, white and black tea extracts by electrospray ionization mass spectrometry and modeling of their in vitro antibacterial activity. **LWT**, v. 65, p. 414–420, 2016.

HACKE, A. C. M. et al. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. **Journal of food science**, v. 81, n. 9, p. C2206–C2217, 1 set. 2016.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 10, p. 2862–2866, 1 out. 2014.

HANDA, C. L. et al. Multi-response optimisation of the extraction solvent system for phenolics and antioxidant activities from fermented soy flour using a simplex-centroid design. **Food Chemistry**, v. 197, p. 175–184, 15 abr. 2016.

HAROLDO, D. et al. **Desenvolvimento e sustentabilidade na fruticultura de exportação**. [s.l: s.n.].

HE, Y. et al. Effects of dietary fiber on human health. **Food Science and Human Wellness**, v. 11, n. 1, p. 1–10, jan. 2022.

HUDZICKI, J. **Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.atcc.org>.

IBGE. **IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Municipal: Culturas Temporárias e Permanentes**. [s.l: s.n.].

ICHIHARA, K.; FUKUBAYASHI, Y. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. **Journal of Lipid Research**, v. 51, n. 3, p. 635–640, 1 mar. 2010.

IKEDA, M. et al. Nutritional and bioactive composition of achachairu (*Garcinia humilis*) seed flour: A potential ingredient at three stages of ripening. **LWT**, v. 152, 1 dez. 2021.

INCA. **Ministério da Saúde. INCA - Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2023 | Incidência de Câncer no Brasil**. [s.l: s.n.].

INDELICATO, S. et al. **Triacylglycerols in edible oils: Determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations**. **Journal of Chromatography A** Elsevier B.V., , 15 set. 2017.

INSTITUTO ADOLF LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. [s.l: s.n.].

JENTZSCH, P. V.; CIOBOTĂ, V. Raman spectroscopy as an analytical tool for analysis of vegetable and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 29, n. 5, p. 287–295, 1 set. 2014.

KAJARIA, D. et al. In-vitro  $\alpha$  amylase and glycosidase inhibitory effect of ethanolic extract of antiasthmatic drug - Shirishadi. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 4, n. 4, p. 206, 2013.

KELLY, N. P.; KELLY, A. L.; O'MAHONY, J. A. **Strategies for enrichment and purification of polyphenols from fruit-based materials.** *Trends in Food Science and Technology* Elsevier Ltd, , 1 jan. 2019.

KIM, Y. S.; SHIN, D. H. Volatile components and antibacterial effects of pine needle (*Pinus densiflora* S. and Z.) extracts. **Food Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 37–45, jan. 2005.

KLAFKE, J. Z. et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 299–305, 3 fev. 2010.

KLAFKE, J. Z. et al. Study of oxidative and inflammatory parameters in LDLr-KO mice treated with a hypercholesterolemic diet: Comparison between the use of *Campomanesia xanthocarpa* and acetylsalicylic acid. **Phytomedicine**, v. 23, n. 11, p. 1227–1234, 15 out. 2016.

KUMARI, S. et al. EssOilDB: A database of essential oils reflecting terpene composition and variability in the plant kingdom. **Database**, v. 2014, 2014.

KUPPUSAMY, P. et al. Quantification of major phenolic and flavonoid markers in forage crop *Lolium multiflorum* using HPLC-DAD. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 3, p. 282–288, 1 maio 2018.

LAWER-YOLAR, G.; DAWSON-ANDOH, B.; ATTA-OBENG, E. Novel phase change materials for thermal energy storage: Evaluation of tropical tree fruit oils. **Biotechnology Reports**, v. 24, 1 dez. 2019.

LEANDRO, F. D. et al. Dereplication and evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory activity of hydroethanolic extract of leaves from *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. **Natural product research**, v. 35, n. 23, p. 5549–5553, 1 dez. 2021.

LEÃO, D. P. et al. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146–153, 15 jun. 2017.

LESCANO, C. H. et al. Polyphenols Present in *Campomanesia* Genus: Pharmacological and Nutraceutical Approach. Em: **Polyphenols in Plants**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 407–420.

LI, H. Z. et al. Optimization of ultrasound-assisted hexane extraction of perilla oil using response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 18–24, 5 dez. 2015.

LIAO, X. et al. Changes in phenolic compounds and antioxidant activities of “nine steaming nine sun-drying” black soybeans before and after in vitro simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, v. 162, 1 dez. 2022.

LIU, Z. et al. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. MAY, p. 1–14, 2018.

LOURENÇO, S. C.; MOLDÃO-MARTINS, M.; ALVES, V. D. **Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications**. *Molecules* MDPI AG, , 2019.

LUBER, J. et al. Flora do Espírito santo: Campomanesia (Myrtaceae). *Rodriguesia*, v. 68, n. 5, p. 1767–1790, 1 out. 2017.

LUNA, S. L. R. DE; RAMÍREZ-GARZA, R. E.; SALDÍVAR, S. O. S. Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *Scientific World Journal*, v. 2020, 2020.

MA, Y. L. et al. Exploring the effect of in vitro digestion on the phenolics and antioxidant activity of *Lycium barbarum* fruit extract. *Food Bioscience*, v. 51, 1 fev. 2023.

MAHINDRAKAR, K. V.; RATHOD, V. K. Ultrasound-assisted intensified aqueous extraction of phenolics from waste *Syzygium cumini* leaves: Kinetic studies and evaluation of antioxidant, antidiabetic and anticancer potential. *Food Bioscience*, v. 46, 1 abr. 2022.

MARIN, R. et al. Volatile Components and Antioxidant Activity from some Myrtaceous Fruits cultivated in Southern Brazil. *Am. J. Pharm*, v. 27, n. 2, p. 172–179, 2008.

MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 94, n. 1, p. 55–57, set. 2004.

MARKOM, M. et al. Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. *Separation and Purification Technology*, v. 52, n. 3, p. 487–496, jan. 2007.

MARTINS, S. et al. **Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review**. *Biotechnology Advances*, maio 2011.

MASYITA, A. et al. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X*, v. 13, 30 mar. 2022.

MELO, A. M. et al. Valorization of the agro-industrial by-products of bacupari (*Garcinia brasiliensis* (Mart.)) through production of flour with bioactive properties. *Food Bioscience*, v. 45, 1 fev. 2022.

MENDES, R. D. M.; PINTO, E.; SOARES, D. Determinação dos compostos bioativos da gabioba. *Agrarian*, v. 11, n. 39, p. 68–72, 25 maio 2018.

MOHAMMADPOUR, H. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Moringa peregrina* oil with response surface methodology and comparison with Soxhlet method. *Industrial Crops and Products*, v. 131, p. 106–116, 1 maio 2019.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, n. 1–2, p. 55–63, 1983.

MOURA, I. O. et al. Chemical Characterization, Antioxidant Activity and Cytotoxicity of the Unconventional Food Plants: Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) Leaf, Major Gomes (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) and Caruru (*Amaranthus deflexus* L.). **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, n. 5, p. 2407–2431, 1 maio 2021.

MOURA-COSTA, G. F. et al. Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das Cobras, Paraná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 631–638, 28 set. 2012.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. **Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review**. **International Journal of Molecular Sciences** MDPI AG, , 1 abr. 2021.

NAKBI, A. et al. Evaluation of antioxidant activities of phenolic compounds from two extra virgin olive oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 7, p. 711–715, nov. 2010.

NAN, G. et al. Dissociation constants and solubilities of daidzein and genistein in different solvents. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 59, n. 4, p. 1304–1311, 10 abr. 2014.

NERI-NUMA, I. A. et al. **Natural prebiotic carbohydrates, carotenoids and flavonoids as ingredients in food systems**. **Current Opinion in Food Science** Elsevier Ltd, , 1 jun. 2020.

OLIVEIRA, D. A. et al. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 55–62, 1 maio 2016.

OTERO, J. S. et al. Inhibitory effect of *Campomanesia xanthocarpa* in platelet aggregation: Comparison and synergism with acetylsalicylic acid. **Thrombosis Research**, v. 154, p. 42–49, 1 jun. 2017.

PAPOUTSIS, K. et al. Fruit, vegetables, and mushrooms for the preparation of extracts with  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibition properties: A review. **Food Chemistry**, v. 338, 15 fev. 2021.

PASTORI, T. et al. Genotoxic effects of *Campomanesia xanthocarpa* extracts on *Allium cepa* vegetal system. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n. 10, p. 1249–1255, out. 2013.

PAULA, H. C. B. et al. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. **Materials Science and Engineering C**, v. 31, n. 2, p. 173–178, 12 mar. 2011.

PEREIRA, M. C. et al. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3061–3067, 28 mar. 2012.

PEREIRA, M. C. et al. Nanoencapsulation of hydrophobic phytochemicals using poly (dl-lactide-co-glycolide) (PLGA) for antioxidant and antimicrobial delivery applications:

Guabiroba fruit (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg) study. **LWT**, v. 63, n. 1, p. 100–107, 1 set. 2015.

PEREIRA, M. C. et al. Effect of nanoencapsulation using PLGA on antioxidant and antimicrobial activities of guabiroba fruit phenolic extract. **Food Chemistry**, v. 240, p. 396–404, 1 fev. 2018a.

PEREIRA, Y. F. et al. Modulation of the antibiotic activity by the *Mauritia flexuosa* (Buriti) fixed oil against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) and other multidrug-resistant (MDR) bacterial strains. **Pathogens**, v. 7, n. 4, 1 dez. 2018b.

PERTUZATTI, P. B. et al. Antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic extracts of Brazilian blueberries. **Food Chemistry**, v. 164, p. 81–88, 1 dez. 2014.

PERTUZATTI, P. B. et al. Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 259–263, 2015.

PINTO, N. DE O. F. et al. Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 279–288, 1 ago. 2016.

PRESTES, A. A. et al. Influence of guabiroba pulp (*campomanesia xanthocarpa* o. berg) added to fermented milk on probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 141, 1 mar. 2021.

PRESTES, A. A. et al. Potential Properties of Guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg) Processing: A Native Brazilian Fruit. **Advances in Food Technology and Nutrition Sciences – Open Journal**, v. 8, n. 1, p. 1–13, 30 dez. 2022.

PUTNIK, P. et al. **Conventional, non-conventional extraction techniques and new strategies for the recovery of bioactive compounds from plant material for human nutrition.** **Food Research International** Elsevier Ltd, , 1 set. 2019.

QUIDEAU, S. et al. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 3, p. 586–621, 17 jan. 2011.

RAPHAELLI, C. DE O. et al. Biological activity and chemical composition of fruits, seeds and leaves of guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* O. Berg – Myrtaceae): A review. **Food Bioscience**, v. 40, 1 abr. 2021.

RAVINDRAN, R. et al. A review on bioconversion of agro-industrial wastes to industrially important enzymes. **Bioengineering**, v. 5, n. 4, 1 dez. 2018.

RAY, J. et al. Crystallization and polymorphic behavior of shea stearin and the effect of removal of polar components. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, n. 10, p. 1094–1106, out. 2013.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, maio 1999.

REBOREDO-RODRÍGUEZ, P. et al. Characterization of phenolic extracts from Brava extra virgin olive oils and their cytotoxic effects on MCF-7 breast cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, n. May, p. 73–85, 2018.

REGGINATO, A. et al. Antidiabetic and hypolipidemic potential of campomanesia xanthocarpa seed extract obtained by supercritical co<sub>2</sub>. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 3, p. 621–631, 2021.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, 15 ago. 2008.

RODRIGUES, E. et al. Development of a novel micro-assay for evaluation of peroxy radical scavenger capacity: Application to carotenoids and structure-activity relationship. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 2103–2111, 1 dez. 2012.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. [s.l.] ILSI Press, 2001.

RUBALYA VALANTINA, S. Measurement of dielectric constant: A recent trend in quality analysis of vegetable oil - A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 113, p. 1–11, 1 jul. 2021.

SADEGHI-ALIABADI, H.; HAMZEH, J.; MIRIAN, M. Investigation of Astragalus honey and propolis extract's cytotoxic effect on two human cancer cell lines and their oncogen and proapoptotic gene expression profiles. **Advanced Biomedical Research**, v. 4, n. 1, p. 42, 2015.

SAIBU, G. M. et al. In vitro cytotoxic and pro-apoptotic effects of water extracts of *Tulbaghia violacea* leaves and bulbs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 203–209, 22 abr. 2015.

SALMAZZO, G. R. et al. Chemical composition and antiproliferative, antioxidant and trypanocidal activities of the fruits from *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg (Myrtaceae). **Natural Product Research**, v. 35, n. 5, p. 853–857, 2019.

SANT'ANNA, L. S. et al. Chemical Composition and Hypotensive Effect of *Campomanesia xanthocarpa*. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.

SANTOS, J. S. et al. <sup>1</sup>H NMR combined with chemometrics tools for rapid characterization of edible oils and their biological properties. **Industrial Crops and Products**, v. 116, p. 191–200, 1 jun. 2018.

SANTOS, M. et al. Caracterização físico-química, extração e análise de pectinas de frutos de *Campomanesia Xanthocarpa* B. (Gabirola) Physicochemical characterization, extraction and analysis of pectins from fruit of *Campomanesia Xanthocarpa* B. (Gabirola). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 101–106, 2009.

SANTOS, M. DA S. et al. Antioxidant and fatty acid profile of gabioba seed (*Campomanesisa Xanthocarpa* Berg). **Food Science and Technology**, v. 32, n. 2, p. 234–238, 17 abr. 2012a.

SANTOS, M. DA S. et al. Caracterização química e avaliação do potencial antioxidante do doce em massa de gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg). **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, n. 1, p. 73–82, 2013.

SANTOS, M. S. et al. Evaluation of the Technological Potential of Gabioba [*Campomanesia xanthocarpa* Berg] Fruit. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 02, n. 09, 2012b.

SARDI, J. DE C. O. et al. Unexplored endemic fruit species from Brazil: Antibiofilm properties, insights into mode of action, and systemic toxicity of four *Eugenia* spp. **Microbial Pathogenesis**, v. 105, p. 280–287, 1 abr. 2017.

SARKAR, A. et al. A novel method of using refractive index as a tool for finding the quality of aqueous enzymatic extracted algae oil. **Advances in Applied Science Research**, v. 6, n. 4, p. 50–60, 2015.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, n. 4, p. 321–324, ago. 2007.

SCHMIDT, H. DE O. et al. Vitamin and bioactive compound diversity of seven fruit species from south Brazil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 7, p. 3307–3317, 1 maio 2019.

SERAGLIO, S. K. T. et al. Nutritional and bioactive potential of Myrtaceae fruits during ripening. **Food Chemistry**, v. 239, p. 649–656, 15 jan. 2018.

SERRA, J. L. et al. Alternative sources of oils and fats from Amazonian plants: Fatty acids, methyl tocols, total carotenoids and chemical composition. **Food Research International**, v. 116, p. 12–19, 1 fev. 2019.

SHAKERI, M. et al. Toxicity of saffron extracts on cancer and normal cells: A review article. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 21, n. 7, p. 1867–1875, 1 jul. 2020.

SHARONI, Y. et al. **Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review**. **Molecular Nutrition and Food Research**, fev. 2012.

SHEN, H. et al. Structure-activity relationships and the underlying mechanism of  $\alpha$ -amylase inhibition by hyperoside and quercetin: multi-spectroscopy and molecular docking analyses. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, p. 121797, jan. 2022.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Bioactive compounds of the lipid fractions of agro-industrial waste. **Food Research International**, v. 66, p. 493–500, 1 dez. 2014.

SILVA, V. R. F. DA; KEMPKA, A. P. *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg: Therapeutic potential through a comprehensive review of biological activities and phenolic compound interactions. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 54, 1 nov. 2023.

SILVA, É. R. S. et al. Anti-inflammatory Evaluation and Toxicological Analysis of *Campomanesia xanthocarpa* Berg. **Inflammation**, v. 39, n. 4, p. 1462–1468, 1 ago. 2016.

SILVA, S. M. et al. Inhibition of salivary and pancreatic  $\alpha$ -amylases by a pinhão coat (*araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. **Food Research International**, v. 56, p. 1–8, fev. 2014.

SILVA-RODRIGUES, H. C. et al. Gluten free edible film based on rice flour reinforced by guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) pulp. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 137, n. 41, 5 nov. 2020.

SIM, S. F.; TING, W. An automated approach for analysis of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectra of edible oils. **Talanta**, v. 88, p. 537–543, 15 jan. 2012.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SOUSA, J. A. et al. Toxicological aspects of *Campomanesia xanthocarpa* Berg. associated with its phytochemical profile. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 82, n. 1, p. 62–74, 2 jan. 2019.

SOUZA, V. B. et al. Functional properties and encapsulation of a proanthocyanidin-rich cinnamon extract (*Cinnamomum zeylanicum*) by complex coacervation using gelatin and different polysaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 297–306, 1 abr. 2018.

SOUZA, V. R. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381–386, set. 2012.

SOUZA-MOREIRA, T. M. et al. Antidiarrheal activity of *campomanesia xanthocarpa* fruit. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 5, p. 528–531, 1 maio 2011.

SOWA, P. et al. Analysis of cytotoxicity of selected asteraceae plant extracts in real time, their antioxidant properties and polyphenolic profile. **Molecules**, v. 25, n. 23, 1 dez. 2020.

STAVROU, I. J.; CHRISTOU, A.; KAPNISSI-CHRISTODOULOU, C. P. Polyphenols in carobs: A review on their composition, antioxidant capacity and cytotoxic effects, and health impact. **Food Chemistry**, v. 269, p. 355–374, 15 dez. 2018.

STEFANELLO, M. É. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential Oils from Neotropical Myrtaceae: Chemical Diversity and Biological Properties. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, p. 73–94, 2011.

TAN, C. X. et al. Optimization of ultrasound-assisted aqueous extraction to produce virgin avocado oil with low free fatty acids. **Journal of Food Process Engineering**, v. 41, n. 2, 1 abr. 2018.

TENG, H.; CHEN, L.  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitors from seed oil: A review of liposoluble substance to treat diabetes. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 16, p. 3438–3448, 2 nov. 2017.

TIAN, J. L. et al. Bioactive flavonoids from *Rubus corchorifolius* inhibit  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase to improve postprandial hyperglycemia. **Food Chemistry**, v. 341, 30 mar. 2021.

TSAO, R. **Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols**. NutrientsMDPI AG, 2010.

TUDORACHI, N.; MUSTATA, F. Thermal degradation and evolved gas analysis of some vegetable oils using TG/FT-IR/MS technique. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 119, n. 3, p. 1703–1711, 2015.

UMA, D. B.; HO, C. W.; AIDA, W. M. W. Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolic Compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) Leaves (Pengoptimuman Parameter Pengekstrakan Jumlah Sebatian Fenolik daripada Daun Inai (*Lawsonia inermis*)). **Sains Malaysiana**, v. 39, n. 1, p. 119–128, 2010.

VALLILO, M. I. et al. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS FRUTOS DE *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.BERG. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 26, n. 4, p. 805–810, 2006.

VALLILO, M. I. et al. Composição química dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* Berg-Myrtaceae Chemical composition of *Campomanesia xanthocarpa* Berg-Myrtaceae Fruit. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, p. 231–237, 2008.

VIDAL, M. DE F. **Fruticultura**. [s.l.: s.n.].

VIECILI, P. R. N. et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on inflammatory processes, oxidative stress, endothelial dysfunction and lipid biomarkers in hypercholesterolemic individuals. **Atherosclerosis**, v. 234, n. 1, p. 85–92, 2014.

VIEIRA, V. et al. Optimization and comparison of maceration and microwave extraction systems for the production of phenolic compounds from *Juglans regia* L. for the valorization of walnut leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 341–352, 15 nov. 2017.

VINAGRE, A. S. et al. Anti-diabetic effects of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg) leaf decoction. **Article Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 2, 2010.

VOLLI, V.; PURKAIT, M. K. Physico-chemical properties and thermal degradation studies of commercial oils in nitrogen atmosphere. **Fuel**, v. 117, n. PARTB, p. 1010–1019, 2014.

WIEGAND, I.; HILPERT, K.; HANCOCK, R. E. W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. **Nature Protocols**, v. 3, n. 2, p. 163–175, fev. 2008.

YAN, J. et al. A sound approach: Exploring a rapid and non-destructive ultrasonic pulse echo system for vegetable oils characterization. **Food Research International**, v. 125, 1 nov. 2019.

YANG, L. et al. **Response of plant secondary metabolites to environmental factors**. **Molecules** MDPI AG, , 2018.

YAZAN, L. S. et al. Effect of kenaf seed oil from different ways of extraction towards ovarian cancer cells. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 4, p. 328–332, out. 2011.

YOUNG, A. J.; LOWE, G. L. **Carotenoids—antioxidant properties**. **Antioxidants** MDPI, , 1 fev. 2018.

ZAHIR, E. et al. Study of physicochemical properties of edible oil and evaluation of frying oil quality by Fourier Transform-Infrared (FT-IR) Spectroscopy. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S3870–S3876, 1 maio 2017.

ZAINAL-ABIDIN, M. H. et al. **New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review**. **Analytica Chimica Acta** Elsevier B.V., , 1 ago. 2017.

ZHANG, L. et al. Simultaneous determination of tocopherols, carotenoids and phytosterols in edible vegetable oil by ultrasound-assisted saponification, LLE and LC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 289, p. 313–319, 15 ago. 2019a.

ZHANG, Q. et al. Authentication of edible vegetable oils adulterated with used frying oil by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1607–1613, 1 jun. 2012.

ZHANG, Q. W.; LIN, L. G.; YE, W. C. **Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review**. **Chinese Medicine (United Kingdom)** BioMed Central Ltd., , 17 abr. 2018.

ZHANG, Y. et al. Investigating the solid-liquid extraction process of puerarin by molecular dynamics simulations. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 143, 1 nov. 2019b.

ZHANG, Z. et al. Anti-inflammatory activity of  $\beta$ -patchoulene isolated from patchouli oil in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 781, p. 229–238, 15 jun. 2016.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555–559, mar. 1999.